

Mykophenolsäure als zusätzliche Immunsuppression zur Vorbeugung der Graft-versus-Host Disease nach allogener Stammzelltransplantation.

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Dominica Rathje geb. Garitz
geboren am 01.08.1985 in Berlin

Gutachter

1: PD Dr. Herbert G. Sayer

2: Prof. James Beck

3: Prof. Nadezda Basara

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.09.2011

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Grundlagen	4
2.1	Stammzelltransplantation	4
2.1.1	Methoden der Stammzelltransplantation	5
2.1.2	Stammzellquellen	6
2.1.3	Spenderkriterien	7
2.1.4	Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation	8
2.1.5	Konditionierung	9
2.1.6	Graft-versus-Leukämie Effekt	10
2.2	Graft-versus-Host Disease	11
2.2.1	Pathophysiologie	11
2.2.2	Klassifikation der GvHD	13
2.2.3	Inzidenz und Risikofaktoren der GvHD	14
2.2.4	Klinik der akuten GvHD	15
2.2.5	Staging und Grading der GvHD	16
2.3	Prophylaxe der GvHD	16
2.4	Mykophenolsäure	18
2.4.1	Wirkmechanismus	18
2.4.2	Administration und Pharmakokinetik	19
2.4.3	Indikationen	20
2.4.4	Nebenwirkungen	21

2.5	CMV-Reaktivierung	22
3	Ziele der Arbeit	23
4	Patienten und Methoden	25
4.1	Vorläuferstudie	25
4.2	Studiendesign	25
4.3	Patienten und Transplantate	28
4.3.1	Konditionierung	30
4.3.2	Transplantation	31
4.3.3	GvHD-Prophylaxe	31
4.3.4	Supportive Care	32
4.4	Methoden	32
4.4.1	Erhebung der Untersuchungsergebnisse	32
4.4.2	Paraklinische Untersuchung/Labormedizin	33
4.4.3	Therapie der GvHD	34
4.5	Statistik	34
5	Ergebnisse	35
5.1	Applikationsdauer der Studienmedikation	36
5.2	Applikationsart von EC-MPS	36
5.3	Nebenwirkungen	37
5.4	Inzidenz und Schweregrad der akuten GvHD	38
5.4.1	Zusammenhang zwischen aGvHD-Grad und Mortalität	39
5.5	Zeitpunkt des Engraftments	39
5.6	Gesamtüberleben und rezidivfreies Überleben	41
5.7	Todesursachen	43
5.8	Chronische GvHD	43
5.9	Einteilung in Subgruppen	45
5.9.1	HLA-Kompatibilität	46

5.9.2	Patientenalter	48
5.9.3	Konditionierungsintensität	50
5.9.4	GvHD-Prophylaxeregime im Vergleich	52
5.9.5	Zelluläre Zusammensetzung der Transplantate	55
5.9.6	CMV-Reaktivierung bzw. -Infektion	56
6	Diskussion	60
6.1	Einführung	60
6.2	Diskussion der Ergebnisse	61
6.3	Perspektiven	79
7	Schlussfolgerungen	81
	Literaturverzeichnis	i
	Anhang	xvii

Tabellenverzeichnis

2.1	GvHD-Schweregrade nach Glucksberg	17
4.1	Studienziele	27
4.2	Grunderkrankungen und CMV-Status der Patienten	29
4.3	HLA-Kompatibilität der Transplantate	29
4.4	Konditionierung und GvHD-Prophylaxe der Patienten	30
5.1	Dauer der EC-MPS-Medikation	36
5.2	Nebenwirkungen von MPS	37
5.3	Inzidenz der akuten GvHD	38
5.4	GvHD-Schweregrad und Mortalität	39
5.5	Todesursachen	47
5.6	Zusammenhang zwischen chronischer GvHD und Mortalität	47
5.7	HLA-Kompatibilität der mismatch-Transplantate	47
5.8	Zeitpunkt des engraftments, Zellmengen in $X \times 10^6/\text{kg KG}$	59
6.1	Applikationsdauer von EC-MPS und Outcome der Patienten	65
6.2	Studienvergleich: Überlebenswahrscheinlichkeiten	72
6.3	Studienvergleich: Zusammenhang zwischen ATG-Medikation und GvHD-Inzidenz	75

Abbildungsverzeichnis

5.1	Überleben in Abhängigkeit vom Grad der GvHD in Monaten	40
5.2	Überleben in Abhängigkeit von GvHD Grad III - IV in Monaten	41
5.3	Tag des Leukozyten-engraftments nach SZT	42
5.4	Tag des Thrombozyten-engraftments nach SZT	43
5.5	Gesamtüberleben in Monaten	44
5.6	Rezidivfreies Überleben in Monaten	44
5.7	Überleben in Abhängigkeit von der HLA-Kompatibilität in Monaten	48
5.8	Überleben in Abhängigkeit vom Patientenalter in Monaten	49
5.9	Inzidenz von GvHD Grad II -IV in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität	51
5.10	Inzidenz von GvHD Grad III - IV in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität	51
5.11	Überleben in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität in Monaten .	52
5.12	GvHD Grad II - IV in Abhängigkeit vom GvHD-Prophylaxe-Regime	53
5.13	Überleben in Abhängigkeit vom GvHD-Prophylaxeregime in Monaten . . .	54
5.14	Zusammenhang zwischen CMV-Antigenämie und klinisch relevanter GvHD .	58
5.15	Überleben in Abhängigkeit von der CMV-Antigenämie in Monaten	58
6.1	Überleben in Abhängigkeit von der Dauer der MPS-Medikation	66

Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	akute GvHD
AK	Antikörper
AL	Akute Leukämie
ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
APC	Antigenpräsentierende Zelle
ATG	Antithymozytenglobulin
cGvHD	chronische GvHD
CML	chronisch myeloische Leukämie
CMV	Zytomegalievirus
CSA	Cyclosporin A
EC-MPS	enteric coated mycophenolate sodium
G-CSF	granulozyte colony-stimulating factor
G-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GDP	Guanosindiphosphat
GIT	Gastrointestinaltrakt
GvHD	Graft versus Host Disease
GvL	Graft versus Leukämie
HLA	humanes Leukozyten Antigen
i.v.	intravenös
IL	Interleukin
KG	Körpergewicht
KMT	Knochenmarktransplantation
KOF	Körperoberfläche
MMF	Mykophenolatmofetil

MPS	Mykophenolsäure
MTX	Methotrexat
NHL	Non Hodgkin Lymphom
NK	Natürliche Killerzellen
NK	natürliche Killerzelle
NSTEMI	Non-ST-elevation myocardial infarction
NW	Nebenwirkung
p.o.	per os
PBSZT	periphere Blutstammzelltransplantation
RIC	reduced intensity conditioning
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
SZ	Stammzelle
SZT	Stammzelltransplantation
TBI	total body irradiation, (Ganzkörperbestrahlung)
TMA	thrombotische Mikroangiopathie
ZVK	zentraler Venenkatheter

1 Zusammenfassung

Nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation stellt die akute und chronische graft-versus-host disease (GvHD) neben dem Rezidiv die Hauptursache der therapie-assoziierten Mortalität dar. Um die Häufigkeit und Schwere der GvHD zu vermindern bzw. abzumildern, wird das patienteneigene Immunsystem nach der Transplantation medikamentös supprimiert. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob die herkömmliche, zweifache medikamentöse GvHD-Prophylaxe aus Cyclosporin A und Methotrexat oder Antithymozytenglobulin bei Patienten mit hohem GvHD-Risiko wirksam durch den Lymphozytenproliferationshemmer EC-MPS ergänzt werden kann.

Die Hauptziele dieser Studie waren erstens die Beobachtung der Verträglichkeit („feasibility“) von EC-MPS und zweitens die Beurteilung seiner Effektivität, also die Reduktion der GvHD-Inzidenzen. Als Endpunkte dienten die Inzidenzen akuter und chronischer GvHD und das Gesamtüberleben der Patienten. Es handelt sich hier um eine prospektive, monozentrische, offene klinische Phase-II-Studie. Ausgewertet wurden über den Zeitraum von Oktober 2004 bis Dezember 2007 46 Patienten, davon waren 21 männlich und 25 weiblich und das durchschnittliche Alter betrug 47 Jahre. Die Studienpatienten erhielten in 98 % der Fälle unverwandte periphere Blutstammzelltransplantate, die zu 61 % HLA-kompatibel und zu 37 % HLA-teilkompatibel waren. Die Hauptdiagnosen waren akute Leukämien und Non-Hodgkin-Lymphome, 63 % davon lagen in fortgeschrittenen Stadien vor. Die Schweregradeinteilung der akuten und chronischen GvHD erfolgte nach den Glucksberg-Kriterien von 1974. Der Beobachtungszeitraum zum Auswertungszeitpunkt betrug durchschnittlich 32 Monate. Die Studienmedikation wurde bei 65 % der Patienten durchgehend oral verabreicht, bei 28 % erfolgte eine zeitweilige

i.v. Gabe, und 7 % der Patienten wurden ausschließlich intravenös mit MPS behandelt. Bei 5 Patienten (11 %) wurde die Medikation mit MPS vorzeitig eingestellt.

Anhand verschiedener prognostischer Faktoren wurden darüber hinaus Subgruppen von Patienten gebildet und anhand von GvHD-Raten und Gesamtüberleben miteinander verglichen.

Es zeigte sich eine gute Verträglichkeit von EC-MPS mit übersichtlichem Nebenwirkungsprofil. So trat weder ein verzögerte hämatopoetische Rekonstitution („engraftment“) noch ein hohes Risiko für opportunistische Infektionskrankheiten auf (z.B. CMV). Ein stabiles engraftment wurde bei 98 % der Patienten beobachtet.

Die akuten GvHD-Raten betrugen 53 % für die Schweregrade II-IV und 22 % für die Schweregrade III-IV. Nach einem Beobachtungszeitraum von 32 Monaten betrug das Gesamtüberleben 50 %, das rezidivfreie Überleben 41 %. Dabei bestand eine signifikante Korrelation zwischen schwergradiger GvHD und erhöhter Mortalität.

Aufgrund einer 100-Tages-Mortalität von 15 % waren bezüglich der chronischen GvHD 39 Patienten evaluierbar. Diese entwickelten zu 64 % eine limitierte und 13 % eine extensive cGvHD.

Die Subgruppenanalyse hat gezeigt, dass ein niedriges Patientenalter und eine ausbleibende CMV-Antigenämie nach Transplantation mit statistisch signifikant niedrigeren GvHD-Raten verbunden sind. Als weitere Faktoren, die die GvHD-Raten trendartig beeinflussen, wurden folgende ausgemacht: Niedrige GvHD-Raten traten bei dosisreduzierter Konditionierung und GvHD-Prophylaxe mit Atithymozytenglobulin auf.

Diese Faktoren waren jedoch nicht signifikant mit besserem Gesamtüberleben verbunden. Der stärkste Trend zu besserem Überleben lag bei Patienten ohne CMV-Antigenämie vor. Für die Faktoren HLA-Kompatibilität und die zelluläre Zusammensetzung der Transplantate zeigte sich keine Korrelation mit GvHD-Inzidenzen und dem Gesamtüberleben.

Insgesamt wurde im Vergleich zu anderen Studien mit zweifacher GvHD-Prophylaxe beobachtet, dass die Studien-GvHD-Prophylaxe vergleichbar sicher und wirksam ist. Eine Reduktion der GvHD-Inzidenz durch die dreifache medikamentöse Prophylaxe

konnte nicht belegt werden. Es zeigte sich weder eine Reduktion der GvHD-Raten noch eine Reduktion der Mortalität im Beobachtungszeitraum. Weitere Studien, darunter prospektive und randomisierte Studien sind notwendig, um die hier erarbeiteten Erkenntnisse zu verifizieren bzw. weitere Erkenntnisse über die Effektivität von MPS im Zusammenhang mit allogener Stammzelltransplantation zu gewinnen.

2 Grundlagen

2.1 Stammzelltransplantation

Die Stammzelltransplantation (SZT) stellt heute für eine Vielzahl maligner und einiger benigner Erkrankungen der Hämatopoese die einzige kurative Therapieoption dar. Definiert ist die SZT als der Ersatz des maligne entarteten hämatopoetischen Stammzellsystems des Patienten durch die gesunde Hämatopoese eines Spenders. Dieser Prozess wird vorbereitet, indem die kranke Hämatopoese per Konditionierung stark reduziert (myeloreduktives bzw. nonmyeloablatives Konzept) oder ganz eradiziert (myeloablatives Konzept) wird. Welches Konditionierungsregime genutzt wird, hängt sowohl von der Grunderkrankung des Patienten als auch von dessen gesundheitlichem Gesamtstatus ab, der durch Alter, Morbidität usw. definiert wird. Anschließend werden hämatopoetische Stammzellen vom Spender auf den Empfänger übertragen und siedeln sich nach einigen Tagen im Knochenmark und den lymphatischen Organen des Empfängers an. Der Verlauf und das Langzeitüberleben („Outcome“) nach einer SZT hängt von vielen Faktoren ab, von denen einige bereits vor Therapiebeginn festgelegt sind. Andere sind dagegen therapeutisch beeinflussbar und sollten deswegen vor einer SZT sorgfältig geprüft werden, um danach optimal zusammengestellt zu werden. Wichtige patientenabhängige Faktoren sind vor allem (Anasetti 2008):

- Primärkrankheit (CML, AML, MDS etc.) und zytogenetische Risikosituation z.B. bei akuter Leukämie
- der Krankheitsstatus (Remission oder fortgeschrittene Erkrankungsstadien)

- Allgemeininterna, z.B. der Karnofsky-Index
- das Alter des Patienten (Patienten unter 40 Jahren scheinen stärker zu profitieren als ältere)
- der CMV-Status des Patienten (Zytomegalievirus)

Hinzu kommen Spender-abhängige Risikofaktoren:

- HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger (Jedes mismatch verringert das krankheitsfreie Überleben, s. Kap. 2.1.3)
- Alter (Je älter der Spender desto höher das Risiko)
- Geschlecht (höheres Risiko bei Transplantation von weiblichem Spender zu männlichem Empfänger)

2.1.1 Methoden der Stammzelltransplantation

Es bestehen hier grundsätzlich zwei Möglichkeiten; eine SZT kann **autolog** oder **allogen** durchgeführt werden. Beiden Verfahren ist gemein, dass vor der Infusion von Stammzellen eine myeloablative oder myeloreduktive Therapie (Konditionierung) stattfindet, die das Knochenmark des Empfängers auf eine Neubesiedelung durch Stammzellen vorbereitet (Ljungman *et al.* 2006). Der Grundsätzliche Unterschied zwischen autologer und allogener SZT ist im folgenden dargestellt:

- Bei der **autologen SZT** werden dem Patienten selbst Stammzellen entnommen und nach der Konditionierung werden diese Stammzellen reinfundiert. Der große Nachteil dieser Therapie besteht im Verzicht auf den immunologisch bedingten antileukämischen graft-versus-Leukämie Effekt (GvL, s. Kap. 2.1.6) und der damit höheren Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs der Grunderkrankung, deshalb kommt die allogene SZT für begrenzte Indikationen infrage.
- Die **allogene SZT** bezeichnet Therapieregime, bei denen hämatopoetische Stammzellen von einem anderen Individuum (Spender) auf den Patienten (Empfänger) übertragen werden. Der Vorteil der allogenen SZT im Vergleich zur autologen besteht im GvL Effekt und der dadurch geringeren Wahrscheinlichkeit eines Re-

zidivs. Als Nachteile müssen die erhöhte Wahrscheinlichkeit von GvHD und die Notwendigkeit einer langwierigen immunsuppressiven Therapie angesehen werden. Diese stärkere Immunsuppression geht auch mit erhöhter therapie-assoziiierter Mortalität *post transplantationem* einher.

Alle Patienten der MPS-Studie erhielten allogene Transplantate.

2.1.2 Stammzellquellen

Als Stammzellquellen stehen heute sowohl die langjährig bewährten Quellen **Knochenmark** und **peripheres Blut** als auch die neuere und begrenztere Ressource **Nabelschnurblut** zur Verfügung, wobei jede dieser Quellen eigene Vor- und Nachteile für Spender und Empfänger aufweist (Ljungman *et al.* 2006):

1. Das per Beckenkammpunktion unter Narkose gewonnene **Knochenmark** bedeutet für den Spender eine Operation inklusive Vollnarkose, Intubation und allen damit verbundenen Risiken. Nach der OP wird das gewonnene Blut-Knochenmark-Gemisch aufbereitet, gefiltert und anschließend dem Empfänger infundiert. Das engraftment, also die suffiziente Produktion neuer Blutzellen, erfolgt im Vergleich zu aus peripherem Blut gewonnenen Stammzellen um einige Tage später.
2. Um Stammzellen aus dem **peripheren Blut** entnehmen zu können, ist es nötig diese vorher aus dem Knochenmark des Spenders zu mobilisieren. Zu diesem Zweck erhält der Spender über einige Tage den Granulozyten-Wachstumsfaktor G-CSF (granulocyte-colony-stimulating factor), der als Nebenwirkung grippear-tige Beschwerden auslösen kann. Dadurch werden nach 4-6 Behandlungstagen CD 34 positive Stammzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut ausgeschwemmt und können per Apherese isoliert werden. Hierbei wird über mehrere Stunden wiederholt jeweils eine kleine Menge Blut entnommen, dann werden die CD-34+ Zellen durch Zentrifugalkräfte isoliert und entnommen. Alle weiteren Blutbestandteile werden dem Empfänger kontinuierlich reinfundiert. Der Vorteil der peripheren Blutstammzelltransplantation (PBSZT) liegt in der geringeren In-

vasivität für den Spender und einem schnelleren engraftment für den Empfänger. Ein möglicher Nachteil besteht in einer erhöhten Inzidenz akuter GvHD, die in einigen randomisierten Studien aufgefallen ist (Schmitz *et al.* 2002). In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass die PBSZT für Patienten mit kompliziertem Krankheitsverlauf das Gesamtüberleben erhöht und die transplantationsbedingte Mortalität reduziert (Bensinger *et al.* 2001).

3. **Nabelschnurblut** als SZ-Quelle wird in Deutschland vereinzelt für Patienten ohne HLA-identischen Familienspender oder HLA-passenden Fremdspender genutzt. Als Hauptkriterium der Nutzbarkeit wird die CD-34+ Zellzahl pro KgKG des Empfängers betrachtet, erst dann erfolgt die Selektion nach dem HLA-Status. Wegen der oft niedrigen Zellzahl wird Nabelschnurblut wenn überhaupt, dann für die Transplantation bei Kindern genutzt, da deren Körpergewicht und somit die Zellausbeute pro kgKG günstiger ist.

2.1.3 Spenderkriterien

Stammzellspender werden nach festgelegten Kriterien für die allogene SZT so ausgewählt, dass ein bestmögliches Outcome für den Empfänger gewährleistet ist. Diese Kriterien sind in der folgenden Aufzählung aufgelistet. Aus diesen Anforderungen ergibt sich auch das systematische Vorgehen bei der Spendersuche (Anasetti 2008).

1. Ein idealer Spender ist ein **HLA-identisches Geschwister** des Empfängers.
2. Ist ein solcher Spender nicht verfügbar, wird ein Spender über Knochenmarkspenderregister gesucht. Als **voll kompatibler Spender** sind diejenigen definiert, die in der hochauflösenden Typisierung der HLA-Merkmale A,B,C und DR, DQ in 10 von 10 HLA-Merkmalen mit dem Empfänger überein stimmen. Diese Konstellation zwischen Spender und Empfänger wird als „fully match“ bezeichnet.
3. Wird kein passender Spender gefunden und der Krankheitsverlauf erfordert eine baldige Transplantation, wird auch ein **teilkompatibler Spender** mit einer Übereinstimmung in nur 8-9 von 10 HLA-Merkmalen in Betracht gezogen; man

spricht hier von einem „mismatch“ zwischen Spender und Empfänger.

4. Eine weitere Möglichkeit besteht in einer **haplo-identischen Spende**, wenn kein kompatibler Spender verfügbar ist. Hier spendet ein Verwandter, der genetisch zu 50 % passende HLA-Merkmale aufweist. Diese Art der Transplantation wird meistens genutzt, wenn kein genetisch passendes Geschwister für einen Patienten vorhanden ist und die Eltern bzw. Kinder des Patienten Stammzellen spenden. Aufgrund des starken mismatches zwischen Spender und Empfänger werden die T-Zellen des Transplantates entfernt („depletiert“), um das GvHD-Risiko zu senken (Kanda *et al.* 2010).

Je geringer die HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger ist, desto höher ist die GvHD-Rate nach der Transplantation; speziell die Indidenz von schwerer, akuter GvHD steigt an.

2.1.4 Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation

Indikationen für eine allogene SZT sind (Gratwohl *et al.* 2002):

- Akute myeloische Leukämie (AML): nach primärem Induktionsversagen, in zweiter Remission oder bei unbehandeltem ersten Rezidiv. Liegt eine AML in erster Remission vor, wird die Entscheidung zur SZT nach Abwägen der zytogenetischen Risikosituation (unbalancierte Translokation, komplexer Karyotyp) und Spenderverfügbarkeit getroffen (Suciu *et al.* 2001).
- Myelodysplastisches Syndrom (MDS) bzw. sekundäre AML: Die Patienten sind meist älter und profitieren deswegen von dosisreduzierter Konditionierung.
- Akute lymphatische Leukämie (ALL): bei primärem Induktionsversagen, nach Rezidiv, in zweiter Remission und in erster Remission bei speziellen Risiken wie z.B. Philadelphia-Chromosom und bei Auftreten einer minimalen Resterkrankung im Verlauf (Thiebaut *et al.* 2000).
- Chronisch myeloische Leukämie: bei primärer Resistenz gegenüber dem Tyrosinkinase-Inhibitor Imatinib, einem primär fortgeschrittenen Krankheitsstadium

oder bei sehr jungen Patienten.

- Chronisch lymphatische Leukämie (CLL): in erster Remission bei kompatibelem Spender und zytogenetisch bzw. molekular erhöhtem Risikoprofil (17p, Deletion).
- Non-Hodgkin-Lymphome werden meist autolog im Rahmen der Konsolidierungstherapie nach einem Rezidiv transplantiert. Allogene SZ-Transplantationen sind erst in weiter fortgeschrittenen Krankheitsstadien sinnvoll. Bei Mantelzell-Lymphomen bei Patienten unter 65 Jahren besteht die Möglichkeit der allogenen SZT im Rahmen von klinischen Studien.
- Weitere Indikationen stellen z.B. die Thalassämia major, aplastische oder Fanconi-Anämie, Autoimmunkrankheiten und einige solide Tumoren vor allem bei Kindern wie z.B. das Ewing-Sarkom, der Keimzelltumor und das Hochrisiko-Neuroblastom dar.

2.1.5 Konditionierung

Vor einer allogenen SZT bedarf es einer spezifischen Vorbehandlung des Empfängerorganismus. Diese sogenannte Konditionierung verfolgt drei Hauptziele:

1. Induktion einer ausgeprägten und tiefgreifenden Immunsuppression des Empfängers, um das sichere Anwachsen („engraftment“) des Transplantates zu gewährleisten
2. Erreichen einer sogenannten Myeloablation, um „Raum“ im Knochenmark des Empfängers für die neuen hämatopoetischen Zellen zu schaffen
3. Durch die Konditionierung soll die maligne Grunderkrankung möglichst ganz beseitigt werden.

Diese klassischen Ziele können durch unterschiedliche Regime erreicht werden, einerseits basierend auf Ganzkörperbestrahlung in Kombination mit Cyclophosphamid, andererseits chemotherapiebasiert durch verschiedene Substanzen, z.B. Busulfan, Cyclophosphamid, Thiopeta oder Treosulfan. Bei vollständiger Vernichtung des ursprünglichen Empfänger Knochenmarks spricht man von **klassischer oder myeloablativer Kondi-**

tionierung, die die oben genannten drei Ziele voll umsetzt. Leider führt diese klassische Form der Konditionierung zu relativ hohen Raten an therapie-assoziiierter Mortalität; deswegen wird sie vor allem bei jüngeren und gesünderen Patienten routinemäßig eingesetzt.

Neben der klassischen Konditionierung gibt es aber auch das Konzept der **dosisreduzierten Konditionierung** (RIC). Diese wird hauptsächlich bei älteren Patienten oder bei solchen mit relevanten Nebendiagnosen, die die Durchführung einer klassischen Konditionierung prognostisch ungünstig erscheinen lassen, eingesetzt. Dabei werden niedrigere Dosen der herkömmlichen Chemotherapeutika, ggf. in Kombination mit einer Ganzkörperbestrahlung in reduzierter Dosis angewandt. Diese Therapieform setzt nicht so sehr auf die vollständige Myeloablation (Punkt 2), sondern auf den immunologischen antileukämischen Effekt des Transplantats (GvL-Effekt). Diese Art der Konditionierung birgt ein geringeres Risiko therapie-assoziiierter Mortalität, aber das Rezidivrisiko ist hier höher.

2.1.6 Graft-versus-Leukämie Effekt

Ein wesentlicher Faktor für den positiven Verlauf nach allogener SZT ist der GvL-Effekt. Er beruht auf der immunologischen Erkennung und Beseitigung von leukämischen Zellen durch die T- und NK-Zellen des Spenders. So eliminieren diese T-Zellen verbleibende maligne Zellen im Körper des Patienten und bewirken so eine langfristige Rezidivprophylaxe. Die zugrundeliegenden Mechanismen des GvL-Effektes sind jedoch bis heute nur unzureichend geklärt. Er tritt ausschließlich nach allogener SZT auf und ist meist an eine akute oder chronische graft-versus-host disease gebunden (Das *et al.* 2010). Gegenstand der Forschung ist die Entkoppelung von GvL-Effekt und GvHD, dies gelingt bis jetzt nicht in zufriedenstellendem Maße. Therapeutisch genutzt wird der GvL-Effekt z.B. nach Rezidiven, betroffene Patienten werden mit Donorlymphozyten-Infusionen (DLI) behandelt. Erfolgreich ist diese Vorgehensweise vor allem bei CML-Patienten nach einem Rückfall, in geringerem Maße auch bei an-

deren Indikationen (Loren und Porter 2008). Mittlerweile wird die DLI auch zur Behandlung bei minimaler Resterkrankung, zur Rezidivprophylaxe nach allogener SZT genutzt. Eine erfolgreiche Therapie mit dosisreduzierter Konditionierung ist ohne den GvL-Effekt nicht möglich (Munker *et al.* 2006).

2.2 Graft-versus-Host Disease

Die Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion oder graft-versus-host disease (GvHD) ist die häufigste Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation (Deeg und Ferrara 1991). Zugrunde liegt hier eine Interaktion zwischen Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) des Empfängers und ausgereiften T-Zellen des Spenders; es handelt sich also um eine unerwünschte Wechselwirkung der Immunsysteme von Spender und Empfänger des Transplantates. Eine GvHD kann trotz aggressiver immunsuppressiver Prophylaxe auftreten und das sogar dann, wenn Spender und Empfänger des Transplantates HLA-identische Geschwister sind (Goker *et al.* 2001). Es gibt eine akute und eine chronische Verlaufsform, s. Kap. 2.2.2.

2.2.1 Pathophysiologie

Bis heute ist die Pathophysiologie der graft-versus-host disease nicht vollständig verstanden. Sie basiert im Grunde auf einer Immunreaktion der Spender-T-Zellen gegen epithiliale Oberflächen des Empfängerorganismus, die mit einem Zytokinsturm einhergeht.

Es gibt drei Faktoren, die eine GvHD bedingen:

- Übertragung von immunkompetenten Zellen zwischen zwei Individuen
- Histo-Inkompatibilität zwischen Spender und Empfänger der Zellen
- Die Unfähigkeit des Empfängers, diese immunkompetenten Zellen zu inaktivieren oder zu eliminieren.

Die Entstehung der GvHD vollzieht sich nach dem „3-Schritt-Modell“ in drei Phasen (Goker *et al.* 2001, Hill und Ferrara 2000):

- Phase 1: **Konditionierung**

Die maligne Erkrankung *per se*, die Therapieeffekte und die konditionierungsbedingten Gewebeschäden führen zu einer generalisierten Freisetzung von inflammatorischen Cytokinen wie TNF-alpha und IL-1 (Xun *et al.* 1994). Diese Botenstoffe aktivieren die antigenpräsentierenden Zellen (APCs) des Spenders (Matzinger 2002). Außerdem führt die Verletzung von Schleimhäuten im Verdauungstrakt zu einer Aufnahme von Bakterienbestandteilen wie z.B. Lipopolysacchariden und daraus folgt die Aktivierung des angeborenen Immunsystems und der Cytokinkaskade (Paris *et al.* 2001, Teshima und Ferrara 2002).

- Phase 2: **T-Zell-Aktivierung**

In diesem Milieu interagieren transplantierte Spenderlymphozyten und andere Immunzellen mit den in Phase 1 gereiften und aktivierten Empfänger-APCs. Diese exprimieren Cytokine, hauptsächlich IFN- γ , IL-2 und TNF- α . Das führt zur Aktivierung und Vermehrung von Spender-T-Zellen (Teshima und Ferrara 2002).

- Phase 3: **Effektorphase/Organmanifestierung**

Die aktivierten T-Zellen setzen nun ihrerseits inflammatorische Zytokine frei, z.B. IL-2, CSF, TNF- α und TNF- γ . Dadurch werden sowohl weitere T-Zellen als auch andere Zelltypen wie natürliche Killerzellen (NKs), Monozyten und NK-like-Zellen aktiviert. Diese führen zunächst zu Schäden an epithelialen Oberflächen. Besonders betroffen sind die klassischen GvHD-Zielorgane Haut, Gastrointestinaltrakt und Leber. T-Zellen bewirken hier durch verschiedene Mechanismen Organschäden. Während CD-4+ Zellen die Empfängerorgane vor allem über das Fas- und Fas-Ligand-System Apoptosen induzieren, führen CD-8+ Zellen über den Perforin/Granzym-Weg zur Zytolyse der Zielzellen (French und Tschopp 1999, Hsieh *et al.* 2000). Protektiv kommen noch GvHD-mildernde Effekte von regulierenden T-Zellen (T-regs) hinzu (Sykes 1990, Zeng *et al.* 1999).

2.2.2 Klassifikation der GvHD

Die GvHD tritt in unterschiedlichen Verlaufsformen auf; 1974 beschrieben Glucksberg *et al.* einheitliche Standards, nach denen sowohl die Einteilung in akute und chronische GvHD sowie auch die Beurteilung der ausgeprägten Schweregrade erfolgte. Diese mittlerweile historischen, klinisch aber gut etablierten Kriterien dienten bei der vorliegenden Studie als Grundlage der Patienteneinschätzung. Nach Glucksberg erfolgt diese Unterscheidung ausschließlich nach dem Zeitpunkt der ersten Symptome, dem sogenannten Onset. Liegt es vor dem 100. Tag nach SZT spricht man von akuter, bei später auftretenden Symptomen von einer chronischen Form von GvHD (Glucksberg *et al.* 1974). Es gibt aber nicht nur Differenzen im zeitlichen Ablauf der Krankheitszeichen, auch die Organbeteiligung und die Art der Schäden ist verschieden. Nun folgt die Darstellung des Unterschieds zwischen akuter und chronischer GvHD und anschließend wird die Klinik akuter GvHD und deren Einteilung in Schweregrade erläutert, s. Tab. 2.1.

1. Die **Akute GvHD (aGvHD)** tritt meist innerhalb der ersten 100 Tage, gewöhnlich aber schon in den ersten 2-6 Wochen nach SZT auf. Sie verursacht Schäden an den klassischen o.g. GvHD-Zielorganen sowie anderen epithelialen Oberflächen. Ihre Pathophysiologie (s.o.) beruht hauptsächlich auf der Reaktion von Spender-T-Lymphozyten gegen Empfänger-Epithelien. Der Terminus „GvHD“ meint in dieser Arbeit immer die akute GvHD.
2. Die **chronische GvHD (cGvHD)** ist ein pleiotropes Syndrom, das Ähnlichkeiten zu Autoimmunkrankheiten aufweist. Über ihre Ursache gibt es verschiedene Theorien (Kataoka *et al.* 2001, Weinberg *et al.* 1995). Es führt letztendlich zur Reduktion der Immunkompetenz der Patienten und zu Kollagenose-Symptomen verschiedener Art, z.B. lichenoiden oder sklerodermalen Hautveränderungen, Muskelkrämpfen, Xerostomie und Bronchiolitis obliterans (Vogelsang *et al.* 2003). Weiterhin wird die cGvHD in zwei Klassen unterteilt: in die **limitierte Form**, die einen lokalisierten Hautbefall mit oder ohne Leberbeteiligung aufweist und

keiner speziellen Therapie bedarf, und der **extensiven Form**. Bei letzterer liegt eine generalisierte Hautbeteiligung in Kombination mit histologisch gesicherter Leberbeteiligung oder anderer Zielorganbeteiligung vor (Shulman *et al.* 1980). Die extensive cGvHD beeinträchtigt die Prognose des Patienten und muss deshalb medikamentös behandelt werden, bewährt hat sich eine Therapie aus CSA und Steroiden (Sullivan *et al.* 1988). Die cGvHD entwickelt sich bei den meisten Patienten aus einer früheren aGvHD heraus, entweder kontinuierlich oder nach einer Erholungsphase. Selten gibt es auch die *de novo* Entstehung einer cGvHD, diese verläuft meist mild und beeinträchtigt die Prognose selten (Vogelsang *et al.* 2003).

Das National Institute of Health der USA haben ein neues Gradingssystem erarbeitet, das die Unterscheidung zwischen akuter und chronischer GvHD nicht mehr nach dem Zeitpunkt des Auftretens der Symptome, sondern nach bestimmten Symptomkomplexen vornimmt (Przepiorka *et al.* 1995). Auch die Schweregradeinteilung der cGvHD hat sich im neuen System verändert und unterscheidet nicht mehr nur die limitierte und extensive Form, sondern unterteilt in einen milden, moderaten und schweren Verlauf (Perez-Simon *et al.* 2008). Die Dokumentation des Krankheitsverlaufs und dessen Auswertung in der vorliegenden MPS-Studie erfolgte jedoch nach den Glucksberg-Kriterien, da diese klinisch etabliert sind und somit eine bessere Vergleichbarkeit zu anderen Studien gewährleistet ist.

2.2.3 Inzidenz und Risikofaktoren der GvHD

Der wichtigste Prediktor für das Auftreten einer GvHD ist die HLA-Kompatibilität von Spender und Empfänger. Aber auch das Alter des Patienten, das Konditionierungsregime und der Krankheitsstatus vor der Transplantation, die Beschaffenheit des Transplantates und nicht zuletzt die medikamentöse GvHD-Prophylaxe bestimmen das GvHD-Risiko (Jacobsohn und Vogelsang 2007).

Die durchschnittliche Inzidenz von klinisch relevanter akuter GvHD (Grad II-IV, s.

Kap. 2.2.5) nach Stammzelltransplantation(SZT) liegt bei 9 - 50 % bei HLA-kompatibler Familienspende und entsprechender medikamentöser Prophylaxe. Bei nicht verwandter, HLA-kompatibler SZT steigt das Risiko auf 70 %, bei bei nicht verwandter HLA haploidentischen SZT sogar auf 80-90 % (Balduzzi *et al.* 1995, Martin 1991). Ohne Prophylaxe kann der Anteil auf 100 % steigen (Lazarus *et al.* 1984). Außerdem kommt es bei ca. 40- 60 % aller Langzeitüberlebenden nach einer SZT zu chronischer GvHD (Vogelsang und Arai 2001).

2.2.4 Klinik der akuten GvHD

Das Ergebnis der o.g. Vorgänge führt zu einer Apoptose von Epithelzellen und deren Basalmembranen. Die betroffenen Gewebe sind vor allem die Epithelien der Haut, des Gastrointestinaltraktes (GIT) und der Gallengänge. Die Läsionen der Zielorgane ähneln sich histologisch sehr stark, charakteristisch sind infiltrierende Immunzellen in der Nähe von apoptotischen Zellen. Dieses charakteristische Bild wird als „Satellitenzellnekrose“ bezeichnet. Die Diagnostik der GvHD erfolgt meistens klinisch; eine Biopsie ist dabei differentialdiagnostisch wertvoll. Dabei treten an dem betroffenen Organ bestimmte Symptome auf (Goker *et al.* 2001):

1. **Haut:** Die Haut ist das von GvHD am häufigsten und im zeitlichen Verlauf meist am frühesten betroffene Zielorgan. Makroskopisch tritt ein makulopapulöses, evtl. juckendes Erythem auf. Es kann lokalisiert oder generalisiert vorkommen und dabei leicht verlaufen, ähnlich einem Sonnenbrand. Ein schwerwiegender Verlauf kann mit Blasenbildung, Desquamation und Nekrolysenbildung einhergehen und letal verlaufen. Histologisch treten lymphozytäre Infiltration, Satelliten- und Basalzellnekrosen, Dyskeratose, intrazelluläres Ödem, Akantho- und Epidermiolyse auf. Diese Befunde sind jedoch nicht pathognomonisch für GvHD. Das Grading erfolgt aufgrund des prozentual befallenen Hautareals (Martin *et al.* 1990).
2. **Leber:** Die Symptomatik besteht zumeist aus Ikterus in Kombination mit erhöhten Werten von konjugiertem Bilirubin, alkalischer Phosphatase und γ GT.

Histologisch zeigen sich lymphozytäre Infiltration, nukleäre Polymorphismen der kleinen Gallenkanäle und Untergang der Epithelzellen, die zu Cholestase führen. Differentialdiagnosen sind medikamenteninduzierte Toxizität und Infektionen, z.B. CMV. Das Grading richtet sich nach der Höhe des Bilirubins im Serum (Vogelsang *et al.* 2003). In der Differentialdiagnostik zwischen toxischem Leberschaden und Leber-GvHD ist die histologische Beurteilung einer Biopsie durch erfahrene Pathologen sinnvoll.

3. **Magendarmtrakt:** GIT-GvHD stellt klinisch ein schwerwiegendes Problem dar, da sie schwierig zu therapieren und kontrollieren ist. Die Hauptsymptome sind krampfartige Bauchschmerzen und Diarrhö, darüber hinaus treten Übelkeit, Erbrechen, paralytischer Ileus und intestinale Blutungen auf. Die Diarrhö kann durch den hohen Flüssigkeitsverlust von bis zu 10l/d und den zu Transfusionsbedürftigkeit führenden Blutverlust lebensbedrohlich sein (McDonald *et al.* 1986). Histologisch zeigen sich ödematöse und mit diffuser Einblutung einhergehende Kryptenzellnekrosen (Ross und Couriel 2005). Das Grading erfolgt anhand der Menge der täglichen Stuhlmenge (Iqbal *et al.* 2000).

2.2.5 Staging und Grading der GvHD

Die Einteilung der GvHD in Schweregrade erfolgt zunächst organbezogen (Staging) und wird dann zu einem gesamt-GvHD-Grad zusammengerechnet (Grading), um die Prognosen der Patienten besser beurteilen zu können und die Therapie anzupassen. Tab. 2.1 gibt die Einteilung der Schweregrade nach Glucksberg wieder.

2.3 Prophylaxe der GvHD

Die Vorbeugung der GvHD erfolgt normalerweise Standardgemäß mit Ciclosporin (CSA) oder Tacrolimus und einem Kombinationspartner, zumeist Methotrexat (MTX).

- **Ciclosporin (CSA)** ist ein Calcineurininhibitor. Es hemmt die IL-2-Produktion

Stage	Haut (Erythemanteil)	Leber (Bilirubinspiegel)	GIT (Stuhlmenge/Tag)
0	kein Erythem	<2 mg/dl	<500 ml
1	<25 % der KOF	2-3 mg/dl	500-999ml
2	<50 % der KOF	3,1-6 mg/dl	1000-1500 ml
3	>50 % der KOF	6,1-15 mg/dl	>1500 ml
4	generalisiertes Erythem mit Blasenbildung	>15mg/dl	starke Bauchschmerzen mit oder ohne Ileus
Grad der GvHD	Stage Haut	Stage Leber	Stage GIT
I	Stage 1-2	0	0
II	3 oder	1 oder	1
III	3 oder	2-3 oder	2-4
IV	4 oder	4	2-4

Tabelle 2.1: GvHD-Schweregrade nach Glucksberg

und Freisetzung aus T-Helfer-Zellen und führt so zu reduzierter Aktivierung von T-Lymphozyten. Desweiteren gibt es noch das äquivalente Medikament Tacrolimus, das über eine Komplexbildung mit Immunophilin ebenfalls Calcineurin hemmt und so die IL-2-Produktion senkt (Thomson 1990). CSA und Tacrolimus bewirken eine signifikante Reduktion der GvHD-Raten (Goker *et al.* 2001).

Nebenwirkungen: CSA und Tacrolimus führen am häufigsten zu toxischer Nierenschädigung mit Erhöhung der Retentionsparameter. Weitere Nebenwirkungen bestehen in Blutdruckanstieg und Neurotoxizität mit Tremor, Parästhesien, Kopfschmerzen oder Krampfanfällen.

- **Methotrexat (MTX)** ist ein Folsäureantagonist. Es bewirkt eine Reduktion der DNA- und RNA-Synthese und wirkt ausschließlich in der S-Phase des Zellzyklus. Es unterdrückt sowohl die zellvermittelte als auch die humorale Immunaktivität und hat darüber hinaus anti-inflammatorische Eigenschaften. Deshalb wird es auch häufig in der Behandlung rheumatoider Arthritis eingesetzt. Zur GvHD-Prophylaxe wird es nach klassischer Konditionierung alternierend mit CSA gegeben (Ringden *et al.* 1992).

Nebenwirkungen: MTX kann zu Myelotoxizität, Mukositis und Hepatotoxizität führen.

Eine besondere, zusätzliche Form der medikamentösen Immunsuppression ist **Anti-thymozytenglobulin**, da es einerseits Bestandteil des Konditionierungsregimes ist, andererseits durch seine lange Halbwertszeit von 30 Tagen auch weit darüber hinaus wirksam ist (Bunn *et al.* 1996) und somit der Entstehung von GvHD vorbeugt. Es handelt sich um ein polyklonales Gemisch tierischer Immunglobuline gegen menschliche T-Zellen und bewirkt eine T-Zell-Depletion im lebenden Organismus, die sog. *in vivo* T-Zell-Depletion. Das in der MPS-Studie verwendete ATG Fresenius besteht aus polyklonalen Kaninchen-Antikörpern gegen die Jurkat-Zelllinie. Diese Zelllinie besteht aus aktivierten T-Zellen (Mohty 2007).

Nebenwirkungen: Meist kommt es zu einer „first-dosis-Reaktion“ mit Fieber, Schüttelfrost und ggf. pulmonalen Symptomen durch die Zytokokin-Freisetzung bei T-Zell-Zerfall.

2.4 Mykophenolsäure

2.4.1 Wirkmechanismus

Mykophenolsäure (MPS) ist ein medikamentöses Immunsuppressivum und hemmt selektiv die T- und B-Lymphozytenproliferation und konsekutiv u.a. die Produktion von Antikörpern. Der Wirkstoff hemmt selektiv, nicht-kompetitiv und reversibel die Inosinmonophosphat-Dehydrogenase. Dieses Enzym gewährleistet die *de novo* Synthese von Guanosinphosphat (Fulton und Markham 1996). Durch Mangel an Guanosin entsteht ein scheinbarer Überschuss an Adenosin, der über allosterische Effekte die Purinsynthese hemmt (Allison 2005). Dies führt zu einer selektiven Proliferationshemmung von T- und B-Zellen, weil diese besonders auf die *de novo* Synthese von Nukleinsäuren angewiesen sind. Andere Körperzellen dagegen können abgebaute Purinbasen über den Salvage Pathway erneut verwenden und sind so kaum in ihrer Proliferation ein-

geschränkt (Hutchinson *et al.* 2004). Darüber hinaus wirkt Mykophenolsäure fünfmal stärker auf den Isotyp II der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase, welcher sowohl in aktivierten T- und B-Zellen als auch in Monozyten exprimiert wird, als auf den Isotyp I, der in den meisten Körperzellen vorherrscht (Carr *et al.* 1993). Ein weiterer Aspekt des Wirkspektrums von MPS besteht in der Reduktion der Oberflächenglykosilierung der Adhäsionsmoleküle von Lympho- und Monozyten und somit deren Fähigkeit, die Blutgefäße zu verlassen und eine Immunantwort zu initiieren. Dieser Effekt kommt dadurch zustande, dass für die Glykosilierung dieser Zellen Guanosindiphosphat (GDP) benötigt wird. Daraus folgt, dass die Immunzellen sowohl in der Adhäsion an Endothelzellen als auch in der Penetration derselben gehemmt sind (Allison 2005).

2.4.2 Administration und Pharmakokinetik

Mykophenolsäure gibt es in zwei pharmakologischen Darreichungsformen, nämlich als Mycophenolat mofetil (MMF, Cellcept® der Firma Roche) oder als magensaftresistente Form (EC-MPS, Myfortic® der Firma Novartis). MMF ist ein Ester, der in der Leber hydrolysiert und somit in Mykophenolsäure umgewandelt und aktiviert wird (Allison *et al.* 1991). Es wird allgemein in täglichen Dosen von 15-45 mg/kg Körpergewicht verabreicht, was absoluten Dosen von 1-3g/d entspricht. Es kann intravenös oder oral appliziert werden. In Tablettenform wird der Wirkstoff bereits im Magen freigesetzt. Bei der magensaftresistenten Formulierung „enteric coated Mycophenolat Sodium“ (EC-MPS) wird der Wirkstoff erst im Dünndarm frei und soll so obere gastrointestinale Nebenwirkungen reduzieren (Sollinger 2004). Um vergleichbare Wirkstoffspiegel zu erreichen, entspricht eine Dosis von 2000 mg MMF derjenigen von 1440 mg EC-MPS (Budde *et al.* 2004).

Abgebaut wird MPS durch Glucuronidierung in der Leber, das Produkt dieser Reaktion zirkuliert dann teilweise über den enterohepatischen Kreislauf und wird letztendlich renal ausgeschieden (Haentzschel *et al.* 2008). In der vorliegenden Studie wurde EC-MPS verwendet, im Gegensatz zur bislang eher üblichen Darreichungsform MMF.

EC-MPS ist seit 2004 in Europa für die Indikation der soliden Organtransplantation zugelassen.

Im Vergleich zur i.v. Gabe liegt die absolute **Bioverfügbarkeit** von oral verabreichtem MMF bei gesunden Probanden bei ca. 94 %. Bei Patienten nach Organtransplantation liegt jedoch sehr häufig eine stark reduzierte Resorption vor, bei nierentransplantierten Patienten liegt sie z.B. nur bei 45-50 % (Vogelsang und Arai 2001). Bei stammzelltransplantierten Patienten kann die Resorption besonders durch Magen-Darm-GvHD eingeschränkt sein (Bornhäuser *et al.* 1999). Auch eine CSA-induzierte Unterdrückung des enterohepatischen Kreislaufs kann zu niedrigeren MPS-Wirkspiegeln führen (Haentzschel *et al.* 2008).

2.4.3 Indikationen

MMF ist seit 1995 für die Indikation der Nierentransplantation zugelassen, es folgte die Zulassung für Herztransplantation (1998), Lebertransplantation (2000) und für die Nierentransplantation bei Kindern (2001). In drei großen Studien an ca. 1500 Nierentransplantationspatienten wurde die Inzidenz und der Schweregrad der Abstoßung durch den Einsatz von MMF im Vergleich zu einem Placebo oder Azathioprin zusätzlich zum regulären Therapieregime bestehend aus CSA und Kortikoiden um 50 % reduziert (Halloran *et al.* 1997). Nach Herztransplantation konnte für MMF in einer ähnlich angelegten Studie wie oben beschrieben eine Reduktion der 1-Jahres-Mortalität um 45 % ermittelt werden. Darüber hinaus reduziert dieses Medikament den Bedarf an ATG zur Behandlung von akuter Organabstoßung (Kobashigawa *et al.* 1998). Bei Lebertransplantationen zeigte sich kein großer Überlebensvorteil für MMF-Patienten, dafür jedoch eine Reduktion der Abstoßungsepisoden und daraus folgend seltenere Kortikoid-Therapien der Abstoßung. Außerdem wurde die Nierenfunktion der MMF-Patienten besser geschont als in der Vergleichsgruppe (Jain *et al.* 1998).

Im Tiermodell wurde MMF an stammzelltransplantierten Hunden erprobt. Es zeigte sich eine Reduktion der GvHD-Raten bei Kombination von CSA und MMF durch

synergistische Effekte dieser beiden Medikamente bei DLA-mismatched Transplantationen zwischen nicht verwandten Tieren (Yu *et al.* 1998). In Studien am Menschen zur Immunsuppression nach nonmyeloablativer Therapie ergaben sich ebenfalls so gute GvHD-präventive Effekte und reduzierte Gesamttoxizität dieser Kombinationstherapie, dass sie sich mittlerweile in regulären Therapieregimen bei SZT nach nicht myeloablativer Konditionierung (RIC) durchgesetzt hat (McSweeney *et al.* 2001, Maris *et al.* 2003). Auch nach myeloablativer Konditionierung wird MMF seit ca. 10 Jahren im Bereich der Stammzelltransplantation als Immunsuppressivum im Rahmen der GvHD-Prophylaxe als alternativer „Partner“ von CSA anstelle von MTX eingesetzt (Bornhäuser *et al.* 1999, Basara *et al.* 2000). In dieser Studie wurde das wirkstoffgleiche, galenisch von MMF verschieden formulierte EC-MPS eingesetzt, das seit 2004 in Europa für die Abstoßungsprävention nach solider Organtransplantation zugelassen ist.

2.4.4 Nebenwirkungen

Die häufigsten Nebenwirkungen von MPS sind gastrointestinaler Art, wie z.B. Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen oder Durchfall (Behrend 2001). Daneben werden bei Organtransplantatierten Knochenmarksdepressionen beobachtet (Moreso *et al.* 1998). Selten treten dagegen die für andere Immunsuppressiva typischen Nebenwirkungen wie Nephro-, Neuro- und Hepatotoxizität auf. Deshalb weist MPS insgesamt ein relativ günstiges Nebenwirkungsspektrum für ein Immunsuppressivum auf. Nebenwirkungen von MPS bilden sich meist kurze Zeit nach Absetzen des Medikaments zurück. Es lässt sich bei MPS-Patienten im Vergleich mit anderen Therapieregimen eine leicht erhöhte Inzidenz von Herpesinfektionen wie z.B. CMV feststellen (Sievers *et al.* 1997, Kasper *et al.* 2004).

2.5 CMV-Reaktivierung

Die Reaktivierung oder Infektion von SZT-Patienten mit dem Zytomegalievirus ist bis heute ein Problem, das zu schweren und teilweise tödlichen Verläufen führen kann. Das CM-Virus kann sowohl früh nach der Transplantation als auch im Langzeitverlauf zu Komplikationen führen. Einerseits persistiert es oft im Körper einmalig infizierter Patienten und kann somit reaktiviert werden (Reaktivierung), andererseits sind Patienten aufgrund ihrer Immunsuppression nach der Transplantation empfänglicher für Neuinfektionen. Die Infektion mit CMV führt bei SZT-Patienten in erster Linie zu einer schweren Pneumonie, aber auch zu Retinitis oder Darmbefall (Ljungman *et al.* 2008). Der wichtigste Prognosefaktor für die CMV-Reaktivierung ist der IgG-Serostatus von Empfänger und Patient.

3 Ziele der Arbeit

Bis heute ist die graft-versus-host disease (GvHD) neben Rezidiven der Primärkrankheit die Hauptursache für Patientensterblichkeit nach allogener Blutstammzelltransplantation. Es handelt sich bei GvHD um eine Immunreaktion von Spender-T-Zellen gegen epitheliale Zellen des Empfängers, die dramatische Folgen haben kann.

Auch unter immunsuppressiver GvHD-Prophylaxe mit CSA, ATG oder MTX tritt je nach HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger weiterhin häufig eine klinisch relevante GvHD auf, s. Kap. 2.2.3. Deswegen ist die klinische Erprobung weiterer Immunsuppressiva unbedingt vonnöten, um die Inzidenz des GvHD und daraus folgend das Gesamtüberleben der Patienten nach SZT zu verbessern.

EC-MPS ist ein oral verfügbarer, selektiver Lymphozytenproliferationshemmer, der bis jetzt erfolgreich sowohl im Bereich der Organtransplantation zum Schutz vor Abstoßungsreaktionen als auch im Rahmen verschiedener Therapieprotokolle nach SZT genutzt wird. In der vorliegenden Studie erfolgte eine dreifache Immunsuppression mit CSA, MTX und EC-MPS oder mit CSA, ATG und EC-MPS. Bisher ist auch bei Risikopatienten wie den in dieser Studie eingeschlossenen eher eine zweifache Immunsuppression üblich, die zumeist CSA und MTX enthält.

Deshalb wurde diese prospektive Phase-II-Studie bei GvHD-Hochrisiko-Patienten nach Fremdspender-SZT an der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Jena aufgelegt, in der eine dreifache Kombination von CSA, MTX oder ATG und die perorale Gabe von EC-MPS ab dem zehnten Tag nach SZT untersucht werden sollte. Im Vorfeld der MPS-Studie hatte an der FSU Jena bereits eine retrospektive Studie unter ansonsten ähnlichen Studienbedingungen mit 30 Patienten stattgefunden.

Um die Verträglichkeit und Effektivität von der dreifachen Immunsuppression mit EC-MPS nach SZT zu beurteilen, sollen folgende Fragestellungen durch die vorliegende Arbeit beantwortet werden:

Primäre Ziele:

- Über welchen Zeitraum wurde EC-MPS bedarfs-adaptiert laut Studienprotokoll verabreicht?
- Wie gut ist EC-MPS oral applizierbar und verträglich?
- Welche Nebenwirkungen wurden durch EC-MPS verursacht?
- Wie war der zeitliche Verlauf des hämatopoetischen engraftments?
- Wie hoch ist die Inzidenz und der Schweregrad von akuter GvHD?

Sekundäre Ziele:

- Wie hoch ist das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben der Patienten?
- Welche Todesursachen traten auf und wie häufig waren sie?
- Welchen Einfluss hat der Schweregrad einer GvHD auf das Überleben des Patienten?
- Wie hoch ist die Inzidenz von chronischer GvHD?
- Welcher Zusammenhang besteht zwischen akuter und chronischer GvHD?

Weitere Fragestellungen: Welche Rolle spielen die HLA-Kompatibilität, das Patientenalter, die Konditionierungsintensität, die verschiedenen GvHD-Prophylaxe-Regime, die zelluläre Zusammensetzung der Transplantate und der CMV-Status für die Raten akuter GvHD und das Gesamtüberleben?

4 Patienten und Methoden

4.1 Vorläuferstudie

Im Vorfeld der prospektiven MPS-Studie wurde auf der Station für Knochenmarktransplantation der Uni-Klinik Jena bereits eine ähnlich angelegte retrospektive Studie an 30 Patienten mit fortgeschrittenen hämatologischen Erkrankungen durchgeführt. Die GvHD-Prophylaxe bestand aus CSA, MTX und i.v. MMF. Die Patienten erhielten ebenfalls Transplantate von unverwandten Spendern, die meist HLA-kompatibel waren. Von diesen hatten 63,3 % eine GvHD Grad II-IV entwickelt, davon 16,7 % Grad III-IV. Nach einem Beobachtungszeitraum von im Mittel 28 Monaten lag das allgemeine Überleben bei 53,3 % und das rezidivfreie Überleben betrug 50 % (Kasper *et al.* 2004). Die vorliegende MPS-Studie unterscheidet sich im Studiendesign von der Vorarbeit, da sie prospektiv angelegt ist. Außerdem wird in der MPS-Studie die magensaftresistente Formulierung der Mykophenolsäure verabreicht im Gegensatz zur intravenösen Therapie bei der vorangegangenen Arbeit.

4.2 Studiendesign

Der Titel der MPS-Studie lautet: „Mycophenolsäure (MPS) als zusätzliche Immunsuppression zur Vorbeugung der Transplantat-gegen-Wirt Reaktion (GvHD) nach allogener Stammzelltransplantation bei teilkompatiblen Familienspendern oder Fremdspendern.“

Es handelt sich um eine prospektive, monozentrische Phase-II-Studie, deren primäres

Ziel darin besteht, die Verträglichkeit und Wirksamkeit von Mycophenolensäure als Zusatz in der Kombinationsprophylaxe der akuten GvHD zu untersuchen. Dazu wird die Inzidenz und der Schweregrad der GvHD ermittelt, ebenso die Inzidenz der chronischen GvHD. Als sekundäre Studienziele werden folgende Daten erfasst:

- die Rezidivrate
- das Gesamtüberleben
- infektiöse Komplikationen innerhalb des Beobachtungszeitraumes, wie z.B. die CMV-Reaktivierung

Die Studienziele sind in Tab. 4.1 zusammengefasst. In die Studie werden 30 bis 50 Patienten aufgenommen. Außerdem werden Patientensubgruppen bezüglich Gesamtüberleben und GvHD-Inzidenz miteinander verglichen. Die Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena hat diese Studie am 08.12.2003 bewilligt und die Aufsichtsbehörden des Landes wurden entsprechend informiert. Für jeden Patienten wird eine Zusatzversicherung über den Zeitraum von 6 Monaten nach Transplantation abgeschlossen. Alle Patienten stimmen nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung den Studienbedingungen zu und geben ihr schriftliches Einverständnis.

Als Einschlusskriterien sind festgelegt:

- Männliche und weibliche Patienten über 18 Jahren
- Patienten, die eine allogene unverwandte Blutstammzelltransplantation mit HLA-kompatiblen (match, 10 auf 10) oder HLA-teilkompatiblen (mismatch, 7 - 9 auf 10) Transplantaten erhalten *oder* eine verwandte Transplantation mit HLA-mismatch
- Standardisierte primäre GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A (CSA) oder Tacrolimus in Kombination mit Methotrexat oder mit standardisierter Serotherapie mit Antithymozytenglobulin (ATG)

Die **Studienmedikation** besteht aus der Applikation von 2 x 720 mg EC-MPS (Mycophenolsodium, Handelsname Myfortic® der Firma Novartis) p.o. täglich ab dem

zehnten Tag nach der Transplantation. Bei unmöglicher oraler Applikation von MPS erhalten die Patienten die wirkstoff-äquivalente Dosis von 2 x 1 g Cellcept® der Firma Hoffmann-LaRoche i.v. pro Tag. Ab dem 40. Tag nach Transplantation wird bei GvHD-freien Patienten begonnen, MPS auszuschleichen.

Es wird bei jedem Patienten eine dreifache Immunsuppression durchgeführt, die entweder aus CSA, MTX und EC-MPS oder aus CSA, ATG und EC-MPS besteht.

Die Ergebnisse bezüglich GvHD-Inzidenz, Überleben und infektiösen Komplikationen werden anschließend mit ähnlich angelegten Studien unter standardisierter zweifacher Immunsuppression verglichen.

Die Patienten der MPS-Studie weisen ein erhöhtes Risiko für GvHD und somit für therapie-assoziierte Mortalität auf, weil es sich um Fremdspenden mit oder ohne mismatch und eine Familienspende mit mismatch handelt.

Endpunkte der Studie sind das Auftreten einer GvHD vom Schweregrad \geq II, das Auftreten von schwerwiegenden infektiösen oder toxischen Komplikationen im Beobachtungszeitraum oder der Tod der Patienten.

primäre Studienziele	sekundäre Studienziele
1. Verträglichkeit und Effektivität von oralem MPS in der Frühphase nach allogener Transplantation	1. Reduktion der chronischen GvHD
2. Reduktion der akuten GvHD Grad II-IV	2. Reduktion der Therapie-assoziierten Mortalität in den ersten 100 Tagen nach allogener Transplantation
3. Reduktion der schwergradigen akuten GvHD Grad III und IV	3. Verbessertes Allgemeinüberleben der Patienten nach Stammzelltransplantation

Tabelle 4.1: Studienziele

4.3 Patienten und Transplantate

In die Studie wurden über einen Zeitraum von Oktober 2004 bis Dezember 2007 nach Protokoll 49 Patienten eingeschlossen, von denen schließlich 46 für die Analysen evaluierbar waren. Drei Patienten wurden aufgrund von Abweichungen von der Studienmedikation (s. S. 35) nicht in die Datenauswertung mit einbezogen. 21 Patienten waren weiblich und 25 männlich. Der Median des Alters lag bei 47 Jahren und die Altersspanne reichte von 20 bis 65.

Die Diagnosen bestanden in 35 Fällen (76%) aus akuten Leukämien (akute myeloische Leukämie, akute lymphatische Leukämie, myelodysplastisches Syndrom und NK-Zell-Leukämie) und in 11 Fällen (24%) aus Non-Hodgkin-Lymphomen und chronisch lymphatischer Leukämie, s. Tab. 4.2.

Die Spender waren in 28 Fällen (61%) nicht verwandt mit den Empfängern und HLA-kompatibel (match 10 auf 10), in 17 Fällen (37%) gab es eine Abweichung bei der HLA-Kompatibilität (mismatch) bei unverwandten Spendern, davon wiesen zehn Transplantate ein einfaches Antigen-mismatch (9 auf 10) auf, ein Transplantat hatte ein zweifaches Antigen-mismatch (8 auf 10), und vier Transplantate hatten sowohl einen Antigen- als auch einen Allel-mismatch (8,5 auf 10). Darüber hinaus wurde ein Transplantat mit einfachem Allel-mismatch verwendet (9,5 auf 10), sowie eines mit zwei Antigen- und einem Allel-mismatch (7,5 auf 10). Einmal wurde ein verwandter Spender mit einem mismatch (9 auf 10) ausgewählt, s. Tab. 4.3.

Der CMV-Serostatus war bei 31 Patienten (67%) positiv und bei 15 (33%) negativ.

Anzahl Patienten	46	
Geschlecht (männlich/weiblich)	21/25	
Alter (Jahre)	Median 47	range 20-65
Diagnosen		
akute Leukämien	35	76%
Non Hodgkin Lymphome und chronische Leukämien	11	24%
Krankheitsstadium		
erste komplette Remission	17	37%
fortgeschrittene Erkrankung (ad- vanced disease)	29	63%
CMV Status		
CMV positiv	31	67%
CMV negativ	15	33%

Tabelle 4.2: Grunderkrankungen und CMV-Status der Patienten

Transplantate		
HLA-match (10/10), nicht ver- wandt	28	61%
HLA-mismatch, nicht verwandt	17	37%
davon mismatch		
9,5/10	1	2%
9/10	10	22%
8,5/10	4	9%
8/10	1	2%
7,5/10	1	2%
HLA-mismatch (9/10), verwandt	1	2%

Tabelle 4.3: HLA-Kompatibilität der Transplantate

4.3.1 Konditionierung

Auf die Transplantation wurden die Patienten durch verschiedene Konditionierungsregime vorbereitet. 17 (37 %) der insgesamt 46 Patienten wurden klassisch myeloablativ konditioniert. Dazu erhielten sie die Ganzkörperbestrahlung in der Dosis von 12 Gy insgesamt über vier Tage in 6 Fraktionen à 2 Gy. Sie erhielten das Alkylans Cyclophosphamid (Cy) in der Dosierung von 60 mg pro kg Körpergewicht (KG) jeweils an den Tagen 2 und 3 vor der Transplantation.

Konditionierung		
12 Gy TBI, Cy	17	37%
8 Gy TBI, Cy	5	11%
Flu, Bu, ATG	12	26%
8 Gy TBI, Cy, ATG	6	13%
Treo, Flu, ATG	3	7%
8 Gy TBI, Cy, Flu, ATG	1	2%
8 Gy TBI, Flu, ATG	1	2%
Treo, Flu, ATG	1	2%
Konditionierungsintensität		
normal	17	37%
reduziert	29	63%
GvHD-Prophylaxe		
CSA, MPS und MTX	20	43%
CSA, MPS und ATG	21	46%

Tabelle 4.4: Konditionierung und GvHD-Prophylaxe der Patienten

Eine sogenannte dosisreduzierte Konditionierung wurde bei 29 Patienten durchgeführt und bestand bei 12/29 von ihnen aus Fludarabin ($120 \text{ mg/m}^2 \text{ KOF}$) und dem Alkylans Busulfan (8 mg/kg KG). Daneben wurden 5/29 Patienten dosisreduziert bestrahlt mit 8 Gy TBI, verteilt auf 4 Sitzungen à 2 Gy und erhielten dazu Cyclophosphamid. 4/29 Patienten bekamen $3 \times 14 \text{ g/m}^2 \text{ KOF}$ Treosulfan und Fludaranbin. Außerdem erhielten 2/29 Patienten eine individuelle Konditionierung, wovon eine aus TBI, und Flu und

die andere aus TBI, Flu und Cyclophosphamid bestand. Im Rahmen der meisten dosisreduzierten Konditionierungsregime wurde jeweils das Immunsuppressivum ATG in der Dosierung von 40 mg/kg KG eingesetzt.

Für die weiterführenden Betrachtungen wird die Konditionierung nach zwei Gesichtspunkten eingeteilt: Auf der einen Seite wurden die beiden Konditionierungs-Intensitäten („klassisch“ vs. „dosisreduziert“ s. Kap. 2.1.5) miteinander verglichen; Auf der anderen Seite wurden die Patienten nach ihrem Immunsuppressionsregime (CSA, MPS und MTX vs. CSA, MPS und ATG) betrachtet. Das MTX-Regime erhielten 20 Patienten (43 %), das ATG-Regime 21 (46 %). Beide Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Alterszusammensetzung. Die Intensität der Konditionierung hing vom Gesundheitszustand der Patienten und von ihrem Alter ab. So lag der Altersmedian in der Gruppe der klassischen Konditionierung bei 41 Jahren, Streubreite 20-53, der Median in der Gruppe der dosisreduzierten Konditionierung lag bei 51 Jahren, Streubreite 26-65.

4.3.2 Transplantation

Alle Transplantate waren durch G-CSF mobilisierte periphere Blutstammzellen, die per Aphaese gewonnen wurden. Sie enthielten im Mittel $6,01 \times 10^6$ CD-34+ Zellen, also hämatopoetische Stammzellen pro kg KG des Empfängers (Streubreite 0,92- 9,90) und $320,72 \times 10^6$ CD-3+ Zellen, also T-Zellen pro kg KG (Streubreite 40,3- 772,71) des Empfängers. Die Transplantate wurden unmanipuliert via ZVK am Tag 0 infundiert.

4.3.3 GvHD-Prophylaxe

Die Patienten bekamen nach Studienprotokoll den Calcineurininhibitor Ciclosporin A ab dem Tag vor der Transplantation (Tag -1) in einer Startdosierung von 3 mg/kg KG und später erfolgte die Serumspiegel-angepasste weitere Dosierung. Außerdem wurde den Patienten, die im Vorfeld kein ATG erhalten hatten, zusätzlich der Folsäureantagonist MTX gegeben. Hier erhielten die Patienten initial 15 mg am Tag +1, an den Tagen +3, +6 und +11 jeweils eine Dosis von 10 mg/m² KOF intravenös. Diese Kombination

aus CSA und MTX wird als Seattle Protokoll bezeichnet und seit Jahren routinemäßig zur GvHD Prophylaxe angewandt (Bensinger *et al.* 1996).

Laut Studienprotokoll bekamen die Patienten das Studienmedikament EC-MPS in der Dosis von 2 x 720 mg täglich p.o. ab Tag +10 nach der Transplantation. Wenn die orale Applikation nicht möglich war, z.B. wegen Mukositis, wurde Mykophenolat als i.v. Medikation (Cellcept®) in der äquivalenten Dosis von 2 x 1g täglich verabreicht, s. Kap. 5.2. Mit dem Ausschleichen von MMF wurde bei GvHD-bezüglich symptomlosen Patienten ab dem 40. Tag nach SZT begonnen. Abgesetzt wurde die Medikation bei toxischen Nebenwirkungen und bei Rezidiven.

4.3.4 Supportive Care

Alle Patienten erhielten unterstützende Maßnahmen nach einheitlichen Standards, wie Einzelzimmer mit laminarem Air flow, Sterilpflege nach Standard der KMT-Station Jena, medikamentöse Infektprophylaxe sowie die Gabe von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten bei Bedarf.

4.4 Methoden

4.4.1 Erhebung der Untersuchungsergebnisse

Täglich wurden die Patientenbeschwerden bezüglich der Organsysteme Haut/Schleimhaut und Verdauungstrakt erfragt und untersucht, gleichzeitig erfolgte die Bestimmung der Ein- und Ausfuhr. Die Einschätzung des Schweregrades einer vermeintlichen oder wirklichen GvHD erfolgte nach den in der Literatur beschriebenen international etablierten Glucksberg Kriterien, s. Kap. 2.2.5. Die Einschätzung und endgültige Dokumentation erfolgte nach Rücksprache mit dem Leiter des Arbeitsbereiches SZT, um hier eine im Verlauf möglichst einheitliche Bewertung der manchmal subjektiv zu betrachtenden Symptome zu gewährleisten. So war eine konstante Wertung der Symptome innerhalb

der ärztlichen Betreuung kontinuierlich gesichert. Für die Auswertung relevant war die jeweils schwerste Ausprägung der aGvHD eines Patienten, die sich sowohl im stationären Verlauf als auch in der anschließenden ambulanten Betreuung durch die SZT-Ambulanz zeigte. Nebenwirkungen wurden ebenfalls beobachtet und nach Schweregrad erfasst. Für gastrointestinale Nebenwirkungen wurden die „Common Toxicity Criteria“ verwendet, die folgende Schweregrade unterscheidet (Van Glabbeke *et al.* 2006):

- Grad 1 - geringe Beeinträchtigung, nicht therapiebedürftig, spontane Rückbildung der Nebenwirkungen
- Grad 2 - mäßige Beeinträchtigung, ohne invasive Therapie behandelbar, Nebenwirkungen gut beherrschbar
- Grad 3 - ausgeprägte Beeinträchtigung, massive invasive oder medikamentöse Therapie erforderlich, Nebenwirkungen schwer beherrschbar
- Grad 4 - lebensbedrohliche Beeinträchtigung, chirurgische Intervention nötig, Nebenwirkungen evtl. nicht beherrschbar

4.4.2 Paraklinische Untersuchung/Labormedizin

Neben der täglichen klinischen Untersuchung erfolgten zahlreiche Laboruntersuchungen des Blutes, unter anderem Blutbildkontrollen, Elektrolyte, Nieren- und Leberwerte. Durch tägliche Bestimmung des Differentialblutbildes wurde das engraftment der Leuko- und Thrombozyten gemessen. Für die Leukozyten war dies der erste von drei aufeinanderfolgenden Tagen, an denen der Patient $\geq 1,0$ Gpt/ μ l Leukozyten im Blut aufweist und bei Thrombozyten der erste Tag, an dem ≥ 20.000 Thrombozyten pro μ l Blut gezählt werden, ohne dass vorher ein Thrombozytenkonzentrat transfundiert wurde. Außerdem fanden wöchentlich Kontrollen des pp65 Antigens in den Leukozyten statt, um eine CMV-Reaktivierung insbesondere bei Risiko-Konstellationen (Pat. neg./Spender pos.) zu detektieren.

4.4.3 Therapie der GvHD

Trat eine GvHD im klinischen Verlauf auf, wurde sie mit Prednisolon, Infliximab, Everolimus oder Tacrolimus entsprechend jeweils der Klinik und des Schweregrades der GvHD des Patienten nach internen Standards des Arbeitsbereiches behandelt. Dabei wurde die Therapie zunächst mit dem Standardtherapeutikum Prednisolon begonnen und dann gegebenenfalls um weitere Immunsuppressiva erweitert.

4.5 Statistik

Ein Fokus der MPS-Studie lag in der Erfassung der Inzidenz und des Schweregrades der aufgetretenen aGvHD. Diese Werte wurden per Häufigkeitsanalysen ausgewertet. Desweiteren wurde das Überleben bzw. die Mortalität der Patienten erfasst und anhand von Kaplan-Meier-Berechnungen analysiert. Die Auswertung der Daten erfolgte mit SPSS 17.0. Außerdem wurde das Patientenkollektiv anhand verschiedener relevanter Kriterien in Gruppen eingeteilt, z.B. nach HLA-match, infundierter Gesamtzellmenge und Konditionierung. Diese Gruppen wurden dann bezüglich der GvHD-Inzidenz und des Überlebens miteinander verglichen, um zu prüfen, ob die genannten Faktoren die Endpunkte der Studie entscheidend beeinflussten. Die Auswertung erfolgte aufgrund des „Intention-to-treat“ Modells, d.h. es wurden alle Patienten einbezogen, bei denen wie geplant mit der Studienmedikation oder der intravenösen Alternative begonnen wurde. Um die Patientensubgruppen miteinander zu vergleichen, wurden die GvHD-Raten nach Schweregraden erfasst und dichotomisiert betrachtet (einerseits Grad 0-I vs. II-IV und andererseits 0-II vs. III-IV). Um ggf. signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen, wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Als signifikant unterschiedlich wurden die Inzidenzen gewertet, wenn der exakte, zweiseitige Test nach Fisher Werte von $p \leq 0,05$ aufwies. Um Überlebenszeiträume der Gruppen zu vergleichen, wurden Kaplan-Meier-Kalkulationen durchgeführt und per log-rank-Test miteinander verglichen, es galt das gleiche Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$.

5 Ergebnisse

Auswertbarkeit

Über den Studienzeitraum von Oktober 2004 bis Dezember 2007 wurden 49 Patienten in die Studie aufgenommen. Von diesen ursprünglich 49 Patienten gingen 46 in die Auswertung ein. Hinsichtlich der GvHD-Raten muss ein weiterer Patient von der Betrachtung ausgeschlossen werden, da er bei Transplantatversagen (engraftment failure) von der Studienmedikation abweichend behandelt und im weiteren Verlauf erneut transplantiert wurde.

Drei Patienten wurden aus folgenden Gründen nicht in die Auswertung einbezogen: Einer wurde aufgrund des individuellen Risikoprofils (Zweittransplantation und bereits am Tag +25 zeigte sich ein Rezidiv) abweichend von der Studienmedikation behandelt, beim zweiten Patienten traten traten Komplikationen (u.a. eine hypertensive Entgleisung im Vorfeld der SZT) auf, die eine vom Studienprotokoll abweichende Medikation erforderlich machten und beim dritten Patienten wurde mit der Studienmedikation aufgrund von Komplikationen (SIRS, NSTEMI und Tachyarrhythmie) überhaupt nicht begonnen.

Der Beobachtungszeitraum für alle Patienten endet für die vorliegende Arbeit am 01.01.2009. Es werden demzufolge bezüglich der GvHD-Raten stets 45 Patienten, bezüglich der Überlebensraten dagegen 46 betrachtet.

5.1 Applikationsdauer der Studienmedikation

Die Volldosis von EC-MPS sollte laut Protokoll von Tag +10 bis Tag + 40 nach SZT, d.h. über 30 Tage hinweg gegeben werden. MPS wurde bei 5 Patienten (10,8 %) vorzeitig beendet an den Tagen +17, +22, +24, +27, und +38. Die Gründe des frühzeitigen Abbruchs der Medikation bestanden zweimal in Neurotoxizität, zweimal in Nausea und Emesis und einmal in einem Frührezidiv. Insgesamt lag die durchschnittliche Applikationsdauer der vollen Dosis bei 38 Tagen (Median), Streubreite 7 - 687 Tage. EC-MPS wurde also durchschnittlich bis zum Tag +48 nach SZT verabreicht. Das Ende des Ausschleichens war im Mittel nach 68,5 Tagen erreicht, also am Tag +78,5 nach SZT (Streubreite 7 - 874). Bei zwei Patienten war die Therapie mit EC-MPS bis zum Stichtag nicht beendet.

	Tag nach SZT	Streubreite
Applikation der Volldosis EC-MPS	38	7 - 687
Absetzen der EC-MPS Medikation	68,5	7 - 874

Tabelle 5.1: Dauer der EC-MPS-Medikation

5.2 Applikationsart von EC-MPS

Nach Studienprotokoll war die orale Medikation mit EC-MPS 2 x 720 mg/d vorgesehen. Abweichend davon erhielten während des Beobachtungszeitraumes 16 Patienten (34,8 %) dauerhaft oder zeitweilig Mykophenolat als i.v.-Medikation in der äquivalenten Dosierung von 2 x 1 g/d, da eine orale Gabe z.B. aufgrund von Mukositis und anderen GIT-Beschwerden nicht möglich war. Die durchschnittliche Dauer der i.v. Therapie lag bei 17,5 Tagen, Streubreite 8 - 43. Diese intravenösen Gaben erfolgten in 13 Fällen (28,3 %) initial ab Tag +10, in drei Fällen (6,5 %) war die Umstellung erst nach einigen Tagen oraler Applikation erforderlich. Anschließend wurden 13 dieser Patienten auf die orale Gabe mit EC-MPS umgestellt, während bei drei Patienten (6,7 %) die

orale Gabe der Studienmedikation in den ersten 40 Tagen nach SZT nicht möglich war. Anschließend wurde bei diesen Patienten keine weitere MPS-Therapie durchgeführt, da sie keine GvHD-Symptome aufwiesen.

5.3 Nebenwirkungen

Es traten in 5/46 Fällen (10,8 %) Nebenwirkungen auf, die mit MPS in Verbindung gebracht wurden. Viermal (8,7 %) wurde Übelkeit bzw. Erbrechen beobachtet. Drei dieser Fälle waren vom CTC-Schweregrad 1, die Symptome bildeten sich in zwei Fällen unter laufender MPS Medikation spontan zurück, bei dem Patienten mit Kopfschmerz wurde die Medikation abgesetzt und daraufhin bildeten sich die Symptome zurück. Einmal kam es durch die Übelkeit zu einer mäßigen Beeinträchtigung des Patienten mit Gewichtsverlust, hier war eine symptomatische Therapie mit 35 mg Prednisolon täglich erforderlich, um die Nebenwirkung von MPS zu antagonisieren. Es handelte sich daher um den CTC-Schweregrad 2. Zweimal traten fragliche neurotoxische Nebenwir-

Art der NW	CTC-Grad (GIT)	Therapie	Verlauf
Übelkeit, Erbrechen	1	Prednisolon wegen GvHD	spontane Rückbildung unter MPS Medikation
Übelkeit, Erbrechen	1	Prednisolon wegen GvHD	spontane Rückbildung unter MPS Medikation
Übelkeit, Erbrechen	2	Prednisolon gegen die Übelkeit	Gewichtsverlust, Rückbildung unter Prednisolon-Therapie und MPS
Kopfschmerzen, Myoklonien, Übelkeit, Erbrechen	2	Absetzen von MPS	Rückbildung der Symptome innerhalb von 4 Tagen
Tremor, Faszikulationen, Gangunsicherheit	-	Absetzen von MPS	keine Besserung, Progredienz der Symptome (Leukenzephalopathie)

Tabelle 5.2: Nebenwirkungen von MPS

kungen auf, wegen denen MPS abgesetzt wurde. In ersten Fall äußerten sich diese als feinschlägiger Tremor mit grobschlägigem Intentionstremor. Daraufhin wurde MPS am Tag +76 nach SZT abgesetzt, die neurologische Symptomatik des Patienten verstärkte sich jedoch im weiteren Verlauf (Desorientiertheit, Gangunsicherheit, Faszikulationen und Myoklonien) und im weiteren Verlauf nach der SZT wurde ein Rezidiv festgestellt, das zu einer Leukenzephalopathie geführt hatte. Der zweite Fall neurotoxischer Nebenwirkung äußerte sich als starker Kopfschmerz in Kombination mit generalisierten Myoklonien und Nausea. Daraufhin wurde MPS abgesetzt und die Symptomatik war anschließend spontan regredient, es lag CTC-Schweregrad 2 vor. Die einzelnen Nebenwirkungen der Patienten sind in Tab. 5.2 zusammengefasst.

5.4 Inzidenz und Schweregrad der akuten GvHD

13 Studienpatienten zeigten (28,9 %) keine Zeichen akuter GvHD, bei acht (17,8 %) Patienten kam es zu aGvHD ersten Grades. GvHD Grad II entwickelten 14 Patienten (31,1 %), sechs Patienten (13 %) hatten GvHD dritten Grades und vier Patienten (8,7 %) waren von GvHD vierten Grades betroffen.

Grad der GvHD	Anzahl	Prozent
Grad 0	13	28,9
Grad 1	8	17,8
Grad 2	14	31,1
Grad 3	6	13,3
Grad 4	4	8,9

Tabelle 5.3: Inzidenz der akuten GvHD

Im Folgenden wird in Bezug auf die aGvHD-Raten vor allem betrachtet, wie viele Patienten klinisch relevante GvHD Grad II - IV entwickelten und welche Patienten von schwerer aGvHD Grad III - IV betroffen waren. Die Rate der klinisch relevanten GvHD Grad II - IV lag insgesamt bei 24 Patienten (53,3 %), davon waren zehn Patienten

von schwerer GvHD betroffen (22,2 %). Die genaue Aufschlüsselung der Schweregrade ist in Tab.5.3 dargestellt, die Diagnose wurde im Mittel 26 ± 16 Tage nach der Transplantation gestellt, Streubreite 9 - 82.

5.4.1 Zusammenhang zwischen aGvHD-Grad und Mortalität

Um den Einfluss des GvHD-Grades auf die allgemeine Mortalität zu prüfen, wurde eine Kaplan-Meier Analyse mit Bezug auf den Schweregrad der GvHD durchgeführt. Die Todesfälle je nach Schweregrad der GvHD zeigt Tab. 5.4.

GvHD Grad	Anzahl, n =	davon To- desfälle
0	13	5 (38,5 %)
1	8	5 (62,5 %)
2	14	4 (28,5 %)
3	6	4 (66,7 %)
4	4	4 (100 %)

Tabelle 5.4: GvHD-Schweregrad und Mortalität

Zur besseren Illustration des zeitlichen Verlaufs des Überlebens wird in Abb. 5.1 die Kaplan-Meier-Kurve aufgeschlüsselt nach den einzelnen Schweregraden der aGvHD gezeigt.

Fasst man die Patienten in zwei Gruppen zusammen, von denen die erste eher milde GvHD-Verläufe (Grad 0 - II) und die andere schwere (Grad III - IV) aufwies, zeigt sich für die erstgenannte Gruppe eine Mortalität von 14/35 (40 %) gegenüber der anderen, deren Mortalität 8/10 (80 %) beträgt. Dieser Unterschied ist mit $p = 0,035$ signifikant, s. Abb. 5.2.

5.5 Zeitpunkt des Engraftments

Es wurde der Zeitpunkt ermittelt, an dem die Patienten nach der Transplantation wieder selbstständig ausreichend Leuko- und Thrombozyten produzierten. Dieser Zeit-

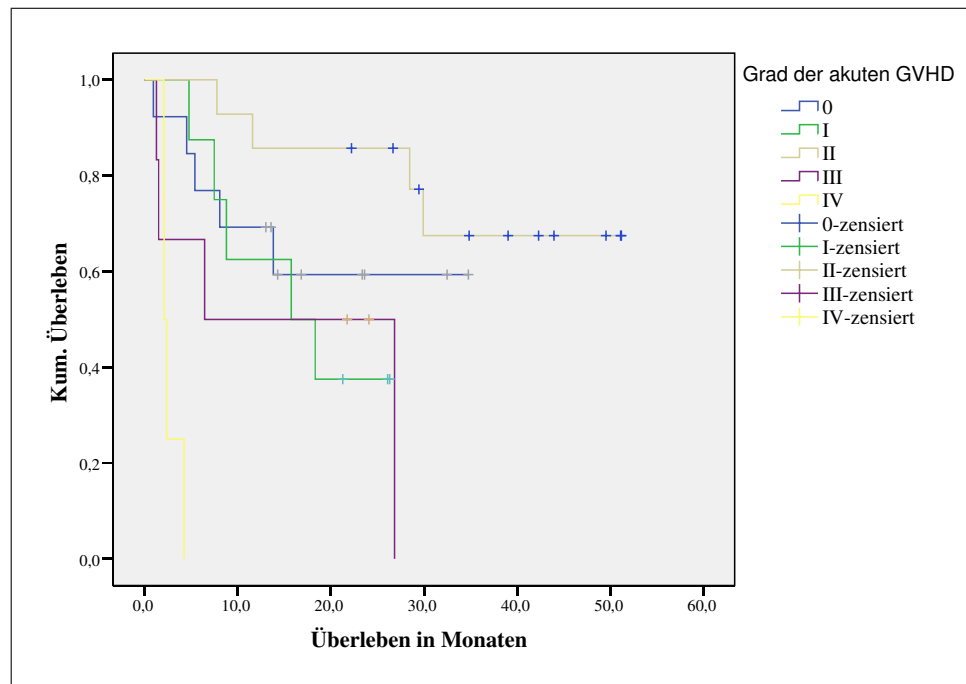


Abbildung 5.1: Überleben in Abhängigkeit vom Grad der GvHD in Monaten

punkt wird als „engraftment“ der transplantierten Stammzellen bezeichnet, s. Kap. 4.4.2. Der Verlauf des engraftments wird in der MPS-Studie bis zum Tag +100 beschrieben.

Das Leukozyten-engraftment der Studienpatienten fand nach durchschnittlich 16 ± 6 Tagen statt (Streubreite 9 - 35), s. Abb. 5.3. 45/46 Patienten (97,8 %) erreichten dieses Stadium.

Das Thrombozyten-engraftment wurde bei 36/46 Patienten (78,3 %) bis Tag +100 erreicht, dies geschah im Mittel am Tag 20 ± 11 , (Streubreite 9 - 70), s. Abb. 5.4. Bis zum Tag +100 starben 4 Patienten ohne stabile Thrombopoese, die restlichen entwickelten das Thrombozyten-engraftment nach Tag +100.

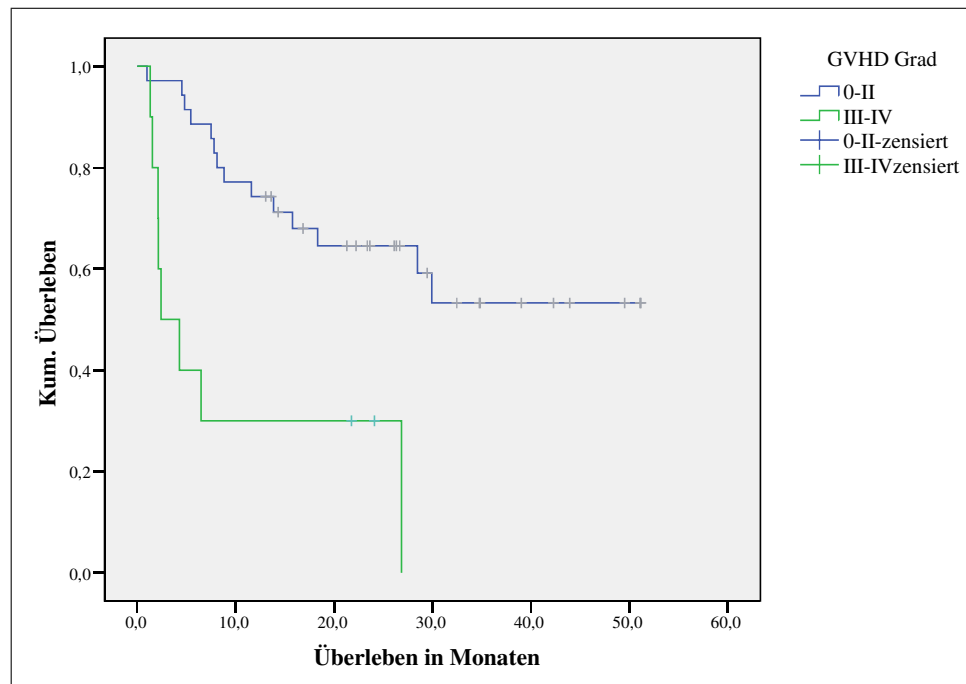


Abbildung 5.2: Überleben in Abhängigkeit von GvHD Grad III - IV in Monaten

5.6 Gesamtüberleben und rezidivfreies Überleben

Im Mittel wurden die Patienten 32 Monate beobachtet, Streubreite 12,9 - 50,9 Monate. Die geschätzte mittlere Überlebensdauer nach Kaplan-Meier-Analyse lag insgesamt bei $28,6 \pm 3,3$ Monaten, das 95 %-Konfidenzintervall reicht von 14,0 bis 42,9 Monaten, s. Abb. 5.5. Das rezidivfreie Gesamtüberleben betrug im Durchschnitt $24,4 \pm 3,3$ Monate, wobei das 95 %-Konfidenzintervall von 17,9 bis 30,8 Monate reichte, s. Abb. 5.6. Das Gesamtüberleben betrug bis zum Stichtag 23 Patienten (50 %). Die rezidivfreien Patienten machten zum Ende des Beobachtungszeitraumes 19/46 (41,3 %) des Kollektivs aus.

Die 100-Tage-Mortalität lag dabei bei 6/46 Patienten (13 %) und diese Todesfälle ereigneten sich an den Tagen +29, +39, +46, +64, +68 und + 72.

Fünf dieser Patienten hatten eine klinisch schwere aGvHD entwickelt (2 x Grad III, 3 x Grad IV). Ein Patient durch ein frühes Rezidiv der Grunderkrankung.

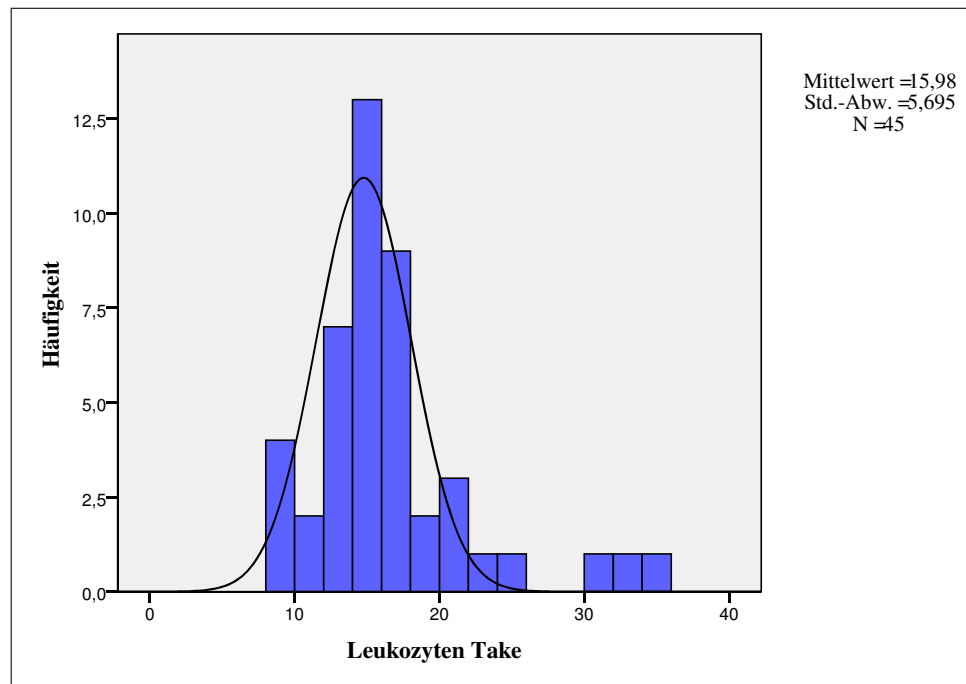


Abbildung 5.3: Tag des Leukozyten-engraftments nach SZT

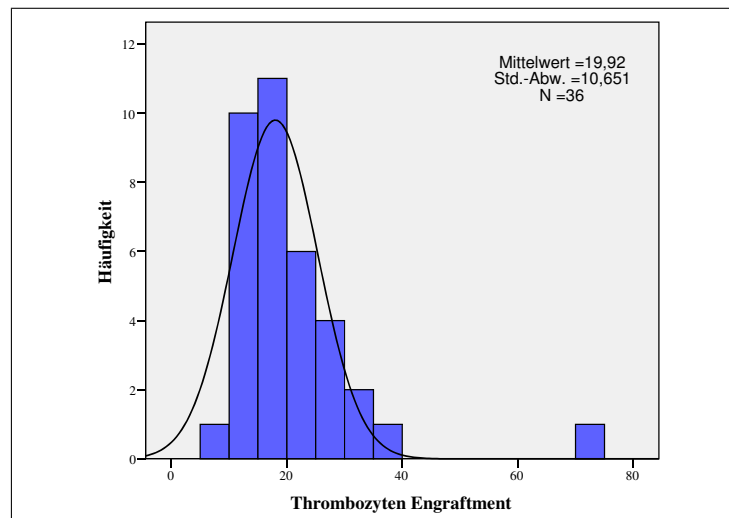


Abbildung 5.4: Tag des Thrombozyten-engraftments nach SZT

5.7 Todesursachen

Am Ende des Beobachtungszeitraumes waren 23 Patienten (50 %) gestorben. Dabei gab es zehn Rezidive, bei einem bestand zum Todeszeitpunkt zusätzlich eine Sepsis. Eine GvHD lag zum Todeszeitpunkt bei zehn Patienten vor (achtmal akute GvHD, zweimal chronische GvHD). Zweimal war die akute GvHD die einzige Todesursache, bei den verbleibenden acht Patienten bestanden gleichzeitig zweimal ein Infekt bzw. eine Sepsis, dreimal eine toxische Leberschädigung und einmal eine thrombozytäre Mikroangiopathie in Kombination mit einer Infektion. Die Ursachen der Todesfälle sind in Tab. 5.5 zusammengefasst.

5.8 Chronische GvHD

Um zu beurteilen, ob Patienten von chronischer GvHD betroffen sind, müssen sie mindestens 100 Tage nach der SZT überleben. Denn erst ab diesem Zeitpunkt ist die Diagnose einer cGvHD nach den Glucksberg-Kriterien frühestens möglich. Sechs Patienten verstarben vor Tag +100, desweiteren ist der Patient mit engraftment-failure

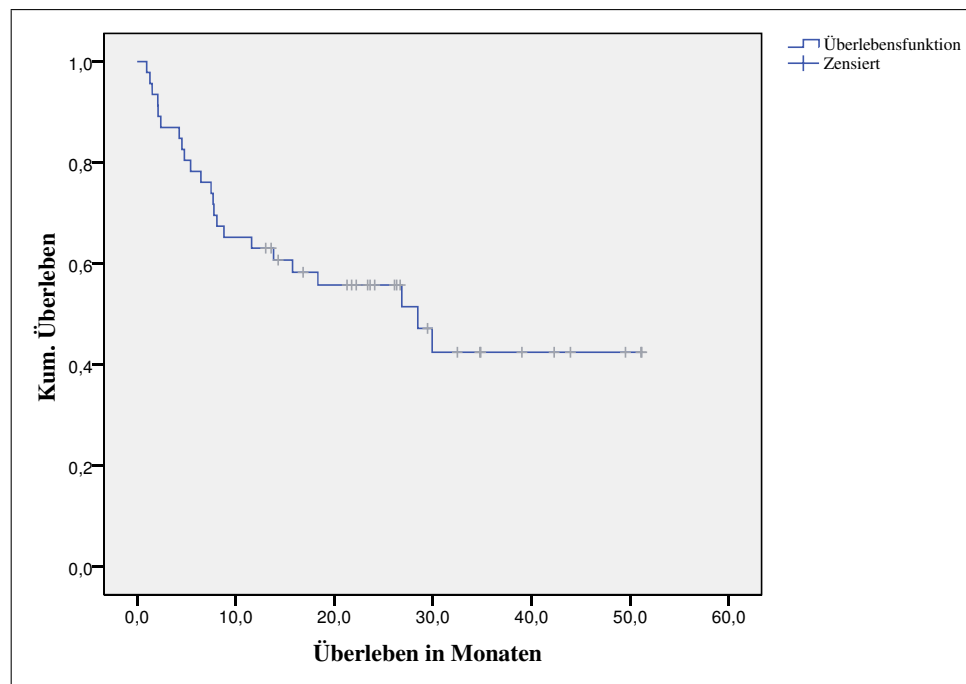


Abbildung 5.5: Gesamtüberleben in Monaten

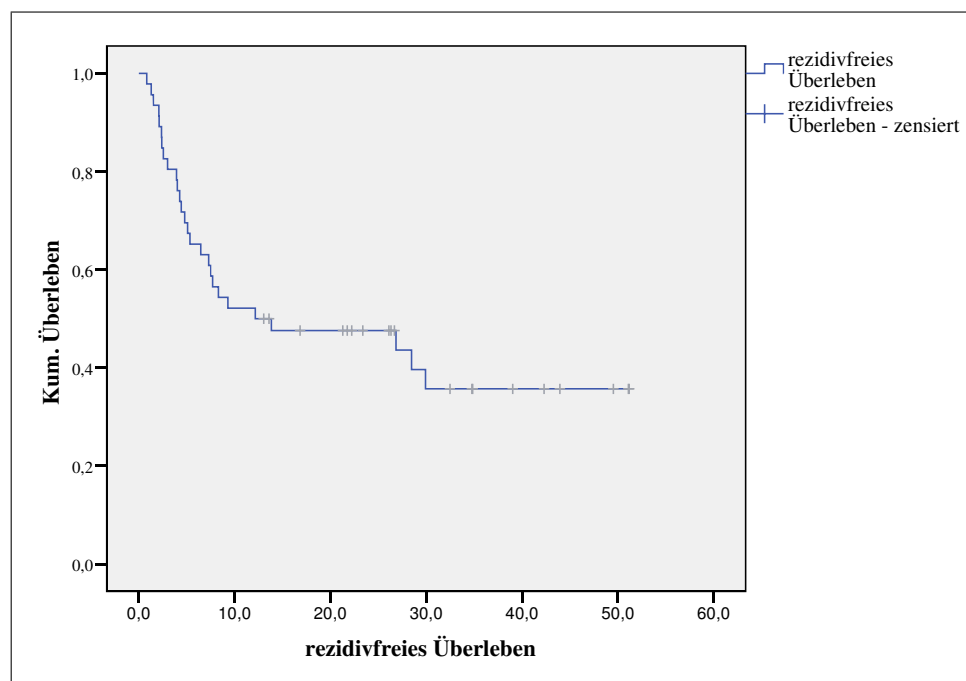


Abbildung 5.6: Rezidivfreies Überleben in Monaten

hier nicht betrachtet worden. Deswegen sind 39/46 Patienten der Studie diesbezüglich auswertbar.

Eine chronische GvHD entwickelten 25/39 (64,1 %) der analysierbaren Patienten, davon war der Verlauf bei 20 Patienten (51,2 %) limitiert und bei fünf Patienten (12,8 %) extensiv (Beobachtung bis Januar 2009). 14 Patienten (35,9 %) zeigten keine Symptome chronischer GvHD. Bei fünf Patienten trat die limitierte cGvHD *de novo* auf, extensive *de novo* Verläufe wurden bei den Studienpatienten bisher nicht beobachtet.

Von den 39 Patienten, die für die Frage nach chronischer GvHD auswertbar waren, hatten 19 (48,7 %) eine aGvHD Grad II - IV entwickelt. Es liegt eine hohe Korellation zwischen klinisch relevanter aGvHD Grad II - IV und chronischer GvHD vor. Die Patienten, die eine extensive cGvHD entwickelten, hatten ohne Ausnahme eine aGvHD Grad II - IV aufgewiesen. Der Zusammenhang zwischen GvHD-Schweregrad II - IV und cGvHD ist mit $p = 0,023$ signifikant. Schwere GvHD Grad III - IV und cGvHD sind ebenfalls signifikant miteinander verbunden, $p = 0,002$.

Es lag kein signifikanter Zusammenhang zwischen allgemeiner Mortalität und Schweregrad der cGvHD vor. Es starben 5/14 (35,8 %) der Patienten ohne cGvHD, davon 4/5 (80 %) an einem Rezidiv. 9/20 (45 %) der Patienten mit limitierter cGvHD starben, hier waren 5/9 (55 %) der Todesfälle Rezidive. 2 von 5 (40 %) der von extensiver cGvHD betroffenen Patienten starben (hauptsächlich durch GvHD-bedingte Symptome). In dieser Gruppe traten keine Rezidive auf. In der Kaplan-Meier-Analyse ergeben sich daraus keine signifikanten Unterschiede bezüglich der mittleren Überlebenszeit ($p = 0,925$). Die Rezidivwahrscheinlichkeit ist bei fehlender cGvHD höher als bei limitierter oder extensiver cGvHD, s. Tab. 5.6.

5.9 Einteilung in Subgruppen

Als Nebenziel der MPS-Studie wurde der Verlauf der Patienten nach der SZT im Hinblick auf eine Vielzahl prognostischer Faktoren betrachtet, z.B. das HLA-match, das Patientenalter und die Konditionierungsregime. Es sollten gängige Thesen aus der Li-

teratur an den Patientengruppen überprüft werden.

Dazu wurden die Patienten nach bestimmten Vorraussetzungen in Gruppen aufgeteilt und daraufhin untersucht, ob die o.g. Faktoren auch in der MPS-Studie von prognostischem Wert für die Überlebenswahrscheinlichkeit und die Wahrscheinlichkeit akuter GvHD waren.

5.9.1 HLA-Kompatibilität

Um zu beurteilen, inwieweit sich die HLA-Kompatibilität der Patienten auf aGvHD-Raten und Überleben auswirkten, betrachteten wir zwei Gruppen im Vergleich: Patienten mit komplettem HLA-match ($n = 28$), was einer Kompatibilität von zehn auf zehn der serologischen HLA-Merkmale A, B, C, DR und DQ entspricht, wurden mit denen verglichen, die ein Transplantat mit mindestens einem HLA-mismatch erhielten ($n = 18$). Die mismatch-Transplantate sind in Tab. 5.7 aufgelistet.

aGvHD-Raten:

Während in der match-Gruppe 13/28 Patienten (46,4 %) von klinisch relevanter aGvHD Grad II - IV betroffen waren, zeigten 11/17 Patienten (64,7 %) der mismatch-Gruppe einen solchen Verlauf. Eine schwere aGvHD Grad III - IV wiesen 5/28 Patienten (17,9 %) der match-Gruppe und 5/17 Patienten (29,4 %) der mismatch-Gruppe auf. Für beide Schweregrade gibt es keine signifikanten Unterschiede der aGvHD-Inzidenz zwischen den Gruppen, $p = 0,356$ für die relevante und $p = 0,467$ für die schwergradige aGvHD.

Überleben

In der match-Gruppe lag das langfristige Überleben bei 16/28 (57,1 %), in der mismatch-Gruppe überlebten 7/18 Patienten (38,9 %). Die geschätzte Überlebenszeit betrug für die match-Gruppe $31,3 \pm 4,3$ Monate und für die mismatch-Gruppe $19,5 \pm 3,3$ Monate, s. Abb. 5.7. Dieser Unterschied in der Überlebenszeit ist nicht signifikant, $p = 0,34$.

Todesursache	Anzahl	Prozent
Rezidiv	10	21,7
GvHD	10	21,7
übrige	3	6,5
von den GvHD Fällen		
nur aGvHD	2	4,3
aGvHD u. a. Symptome	6	13,0
cGvHD u. a. Symptome	2	4,3

Tabelle 5.5: Todesursachen

	gesamt	Mortalität	Rezidive
keine cGvHD	n = 13	5	4 (80 %)
lim. cGvHD	n = 20	9	5 (55 %)
ext. cGvHD	n = 5	2	0 (0 %)

Tabelle 5.6: Zusammenhang zwischen chronischer GvHD und Mortalität

passende HLA-Merkmale	Anzahl der Transplantate	Antigen mismatches	Allel mismatches
n = 18 (39,1 %)			
9,5	1(2,2 %)	-	DR
9	7(15,2 %)	C	-
9	2(4,4 %)	A	-
9	2(4,4 %)	DQ	-
8,5	2(4,4 %)	DQ	A
8,5	1(2,2 %)	B	DR
8,5	1(2,2 %)	C	A
8	1(2,2 %)	2 x C	-
7,5	1(2,2 %)	C,DQ	B

Tabelle 5.7: HLA-Kompatibilität der mismatch-Transplantate

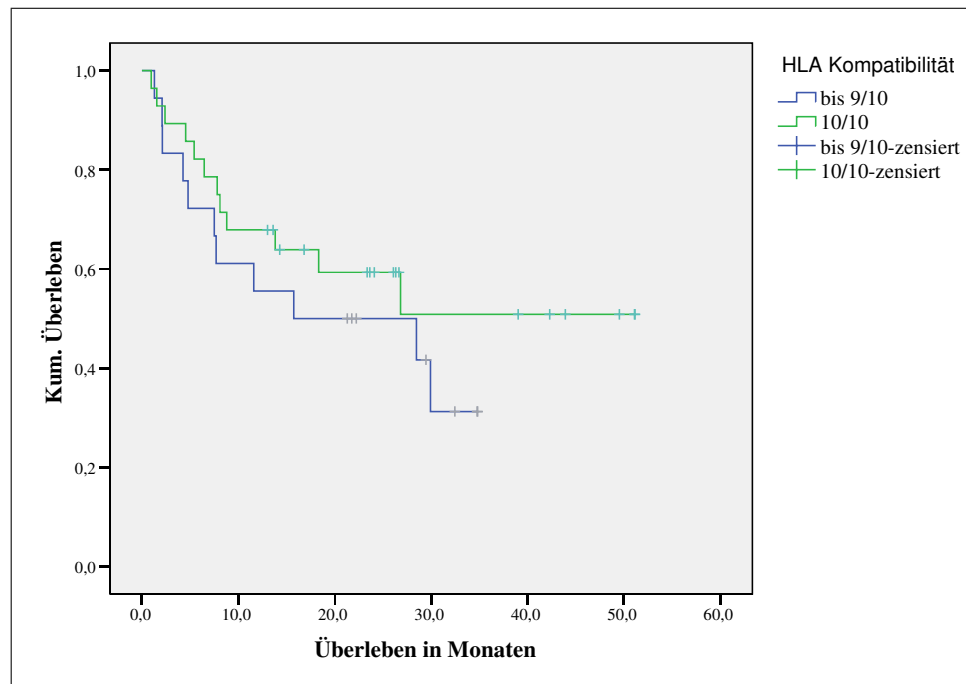


Abbildung 5.7: Überleben in Abhängigkeit von der HLA-Kompatibilität in Monaten

5.9.2 Patientenalter

Der Altersmedian der Studienpatienten lag bei 47 Jahren. Deshalb erfolgte die Aufteilung nach dem Alter in zwei gleich große Gruppen mit jeweils 23 Mitgliedern, eine Gruppe mit Patienten im Alter von bis zu 47 Jahren und eine mit älteren Patienten. Der hinsichtlich der GvHD-Auswertung zensierte Patient befindet sich in der älteren Gruppe.

aGvHD-Raten:

Die Rate klinisch relevanter GvHD Grad II - VI lag in der jüngeren Gruppe mit 16/23 Fällen bei 69,6 % und in der älteren Vergleichsgruppe mit 8/22 Fällen bei 36,4 %. Die älteren Patienten entwickelten deutlich seltener eine GvHD als die jüngeren, dieser Unterschied ist mit $p = 0,038$ signifikant. Bezüglich der HLA-Kompatibilität unterschieden sich die beiden Gruppen nicht deutlich: 8/23 Patienten (39,1 %) der jüngeren Gruppe erhielten teilkompatible Transplantate, in der älteren Gruppe waren es 10/23

(43,5 %).

Bei der Rate an schwerer GvHD (Grad III - VI) ergab sich zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied. Hier waren 6/23 (26,1 %) der jüngeren Patienten betroffen im Vergleich zu 4/22 (18,2 %) der älteren Patienten.

Überleben:

Die Überlebensrate betrug in der jüngeren Gruppe 13/23 Personen (56,5 %) und in der älteren Gruppe 10/23 (43,5 %). In der Analyse nach Kaplan-Meier ergibt sich daraus eine längere geschätzte Überlebenszeit von $31,8 \pm 4,5$ Monaten für die jüngeren vs. $25,6 \pm 4,6$ Monaten für die älteren Patienten. Dieser Unterschied ist nicht signifikant mit $p = 0,328$. Außerdem nähern sich die Überlebenskurven nach ca. 30 Monaten deutlich einander an, s. Abb. 5.8.

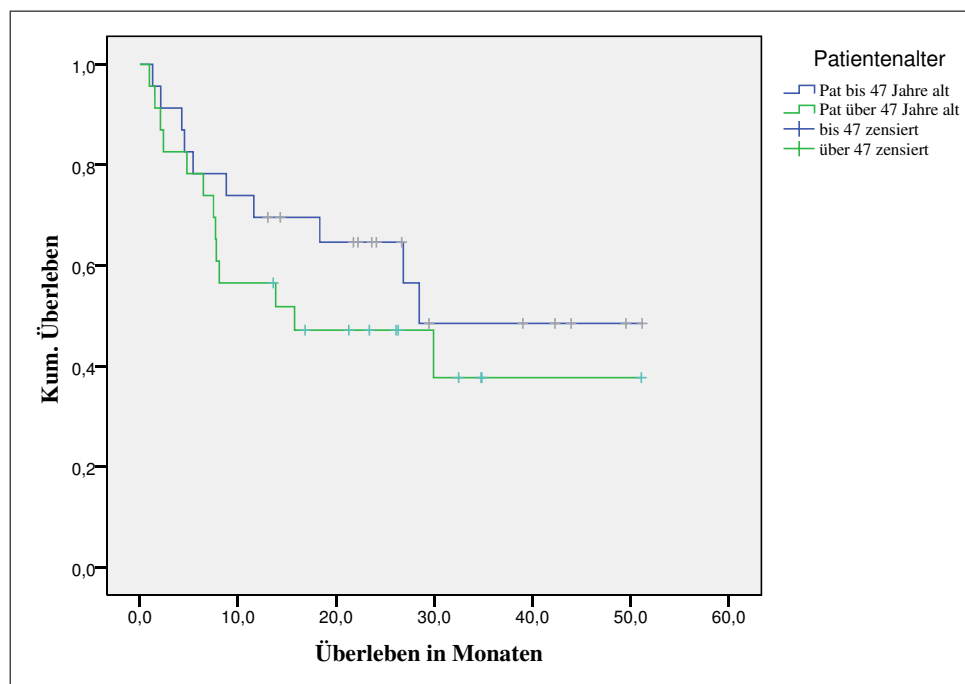


Abbildung 5.8: Überleben in Abhängigkeit vom Patientenalter in Monaten

5.9.3 Konditionierungsintensität

Hier wurden anhand der Intensität der Konditionierung zwei Gruppen gebildet: 17 Personen (37 %) hatten eine klassische Konditionierung erhalten, 28 (63 %) eine dosisreduzierte (RIC).

aGvHD-Raten:

Eine klinisch relevante GvHD Grad II - IV entwickelten 11/17 Patienten (64,7 %) nach klassischer Konditionierung und 13/28 Patienten (46,4 %) nach RIC. Die Inzidenz lag in der erstgenannten Gruppe höher, dieser Unterschied war mit $p = 0,356$ nicht signifikant, s. Abb. 5.9.

Eine schwere GvHD Grad III - IV zeigte sich bei 6/17 (35,3 %) der klassisch konditionierten und bei 4/28 (14,3 %) der RIC-Patienten, s. Abb. 5.10. Hier war der prozentuale Anteil der schweren GvHD in der klassischen konditionierten Gruppe erhöht, aber ebenfalls nicht signifikant, $p = 0,143$.

Überleben:

In der klassisch konditionierten Gruppe lag die Rate der Langzeitüberlebenden bis zum Stichtag bei 10/17 Personen (58,8 %), während sie in der Gruppe mit dosisreduzierter Konditionierung 13/29 Patienten (44,8 %) betrug. Die geschätzte Überlebenszeit nach Kaplan-Meier lag in der klassischen Gruppe bei $31,2 \pm 5,3$ Monate, in der reduzierten Gruppe bei $26,5 \pm 4,1$ Monaten. In der grafischen Darstellung des Überlebens, s. Abb. 5.11 zeigt sich eine Überschneidung der Kurven zu Beginn und ein Berührungspunkt im späteren Verlauf, deshalb ist der Unterschied zwischen den Gruppen nicht signifikant mit $p = 0,642$. Ein (5,8 %) Patient in der klassisch konditionierten Gruppe erlitt einen Rezidiv, während in der RIC-Gruppe 8/29 Patienten (27,6 %) betroffen waren.

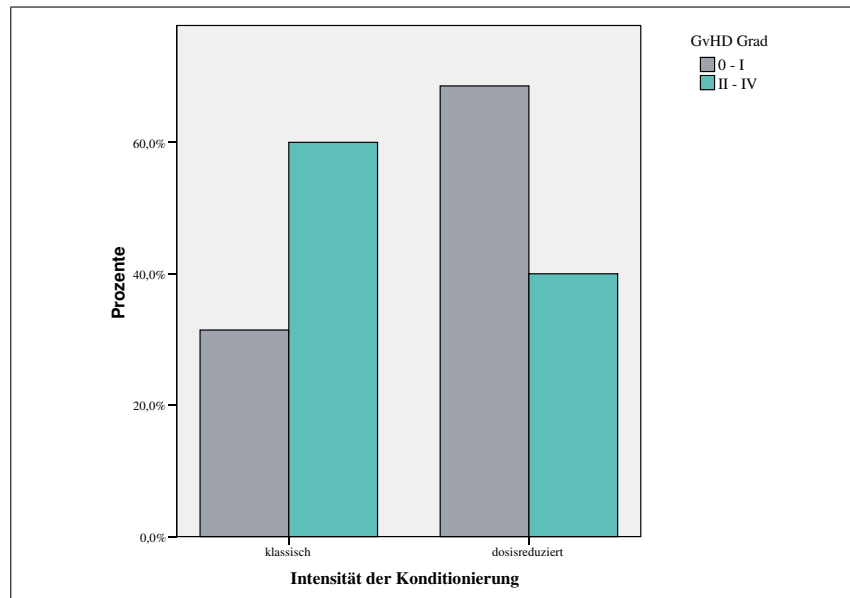


Abbildung 5.9: Inzidenz von GvHD Grad II -IV in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität

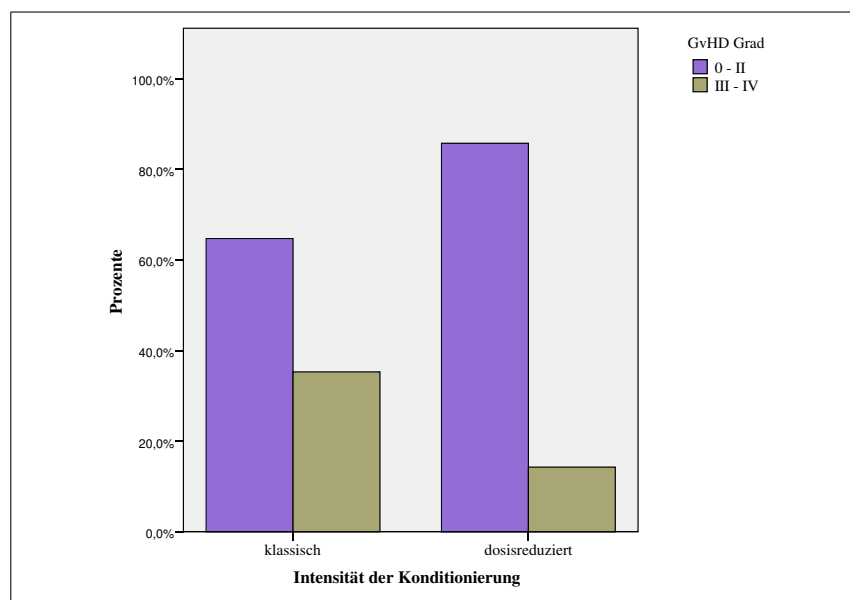


Abbildung 5.10: Inzidenz von GvHD Grad III - IV in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität

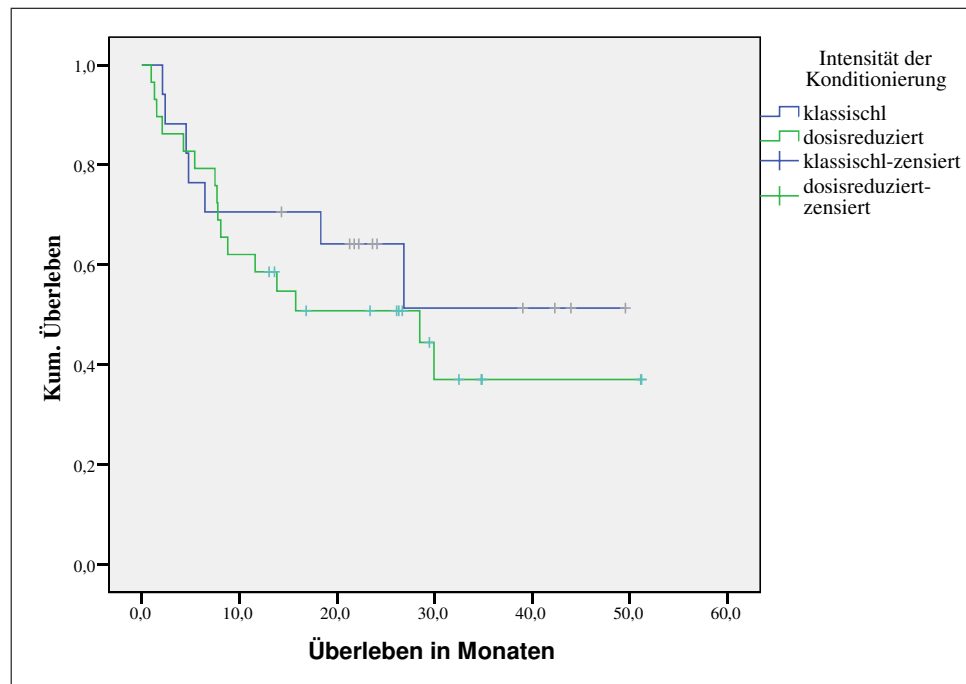


Abbildung 5.11: Überleben in Abhängigkeit von der Konditionierungsintensität in Monaten

5.9.4 GvHD-Prophylaxeregime im Vergleich

Die GvHD-Prophylaxe erfolgte in der MPS-Studie durch eine dreifache medikamentöse Immunsuppression. Diese bestand entweder aus CSA, EC-MPS und ATG *prä transplantationem* (ATG-Gruppe) oder aus CSA, EC-MPS und MTX (MTX-Gruppe). 41 Patienten gehörten diesen Gruppen an, 21 erhielten das ATG-Regime und 20 in das MTX-Regime. Die übrigen fünf Patienten wurden abweichend von diesen Vorgaben behandelt: Drei erhielten die vier Immunsuppressiva ATG, CSA, MTX und EC-MPS und zwei Patienten wurden ausschließlich mit CSA und EC-MPS behandelt. Der bezüglich seiner GvHD zensierte Patient befand sich in der ATG-Gruppe. Betrachtet man nun die beiden medikamentösen Regime im Vergleich, ergibt sich folgendes Bild:

aGvHD-Raten:

In der ATG-Gruppe entwickelten die Patienten in 8/20 Fällen (40 %) eine klinisch relevante GvHD Grad II - IV, in der MTX-Gruppe waren es 14/20 Patienten (70 %), $p = 0,111$. Dieses Verhältnis ist in Abb. 5.12 dargestellt. Eine schwere GvHD Grad III - IV entwickelten 4/20 Patienten (20 %) der ATG-Gruppe und 6/20 (30 %) der MTX-Gruppe, $p = 0,716$.

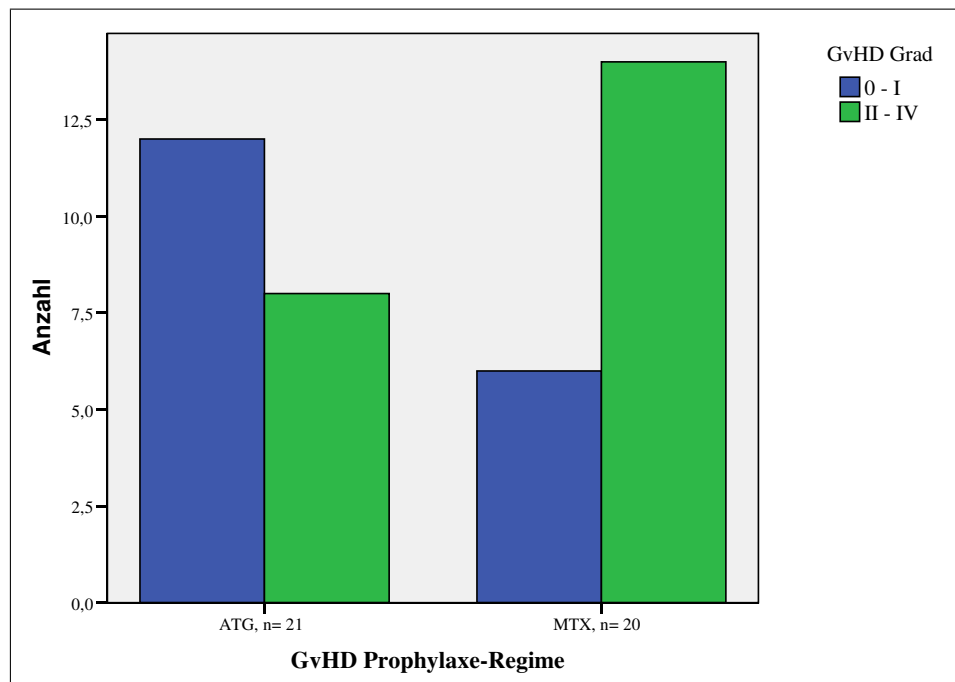


Abbildung 5.12: GvHD Grad II - IV in Abhängigkeit vom GvHD-Prophylaxe-Regime

Überleben:

Für die ATG-Gruppe lag die Überlebensrate bei 11/21 (52,4 %), in der MTX-Gruppe dagegen bei 12/20 bei 60 %. Die geschätzte Überlebenszeit der ATG-Gruppe betrug $29,0 \pm 5,0$ Monate, bei der MTX-Gruppe lag sie bei $32,3 \pm 5,1$ Monaten. Dieser Unterschied ist nicht signifikant, $p = 0,615$. Die Kaplan-Meier-Kurve ist in Abb. 5.13 dargestellt. Rezidive gab es in 3/20 Fällen (15 %) der ATG-Gruppe und in 2/20 Fällen (10 %) der MTX-Gruppe.

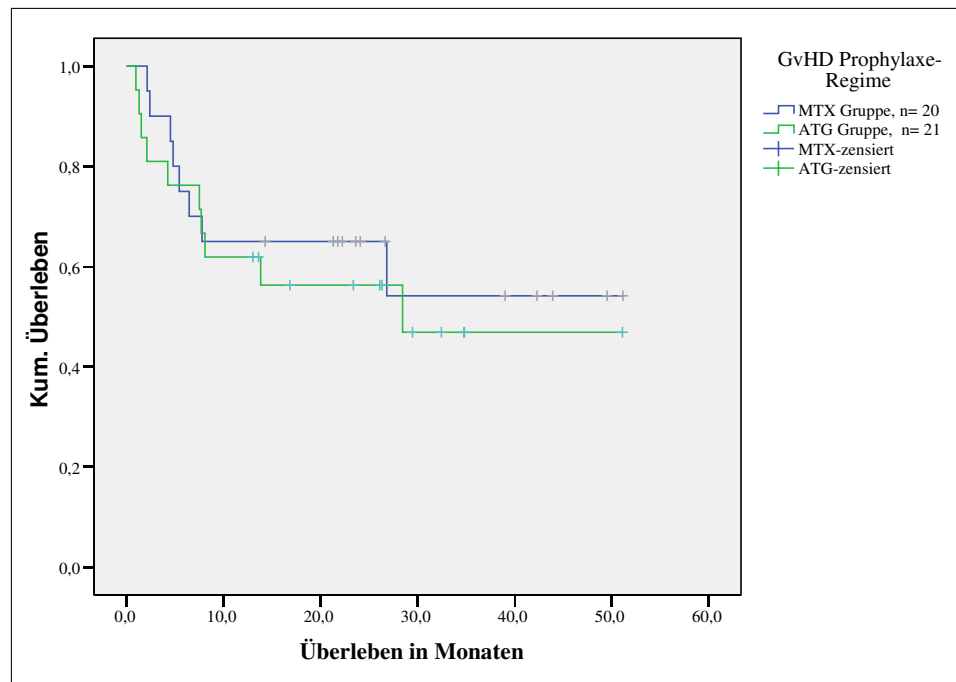


Abbildung 5.13: Überleben in Abhängigkeit vom GvHD-Prophylaxeregime in Monaten

Weitere GvHD-Prophylaxe-Regime:

Die drei Patienten mit vierfacher Immunsuppression hatten durch MPS gastrointestinale Nebenwirkungen erlitten. Bei einem von ihnen wurde MPS abgesetzt und die übrigen erhielten MPS weiterhin. Bei allen dreien wurde dann zusätzlich MTX appliziert. Sie starben an Rezidiven und entwickelten GvHD vom Schweregrad I (zweimal) und II (einmal). Ihr rezidivfreies Überleben lag bei 5,3, 7,3 und 9,3 Monaten. Das HLA-match betrug zweimal 8/10 und einmal 10/10.

Bei zwei Patienten bestand die GvHD-Prophylaxe ausschließlich aus CSA und EC-MPS. Sie lebten 29,9 und 18,3 Monate, die HLA-Kompatibilität war einmal 9/10 und einmal 10/10. Diese starben durch einen Zweittumor und einen Rezidiv bei aGvHD Grad I und II.

5.9.5 Zelluläre Zusammensetzung der Transplantate

Die Stammzellmenge (CD-34+)

Anhand der Menge an hämatopoetischen Stammzellen, die die Transplantate enthielten, wurden drei Gruppen unterschieden: Patienten, die weniger als 5,0 oder 5,0 bis 7,0 oder über $7,0 \times 10^6$ CD-34+ Zellen pro kg KG erhalten hatten. Gruppe 1 hatte $n = 17$, Gruppe 2 $n = 15$ und Gruppe 3 $n = 13$ Mitglieder.

aGvHD-Raten:

In Gruppe 1 entwickelten 9/17 Patienten (52,9 %) eine klinisch relevante GvHD Grad II - IV, in der Gruppe 2 waren es 7/15 Patienten (46,7 %) und in der dritten Gruppe betrug die Rate an aGvHD Grad II - IV 8/13 (61,5 %). Diese Raten unterschieden sich nicht signifikant, $p = 0,733$. Eine klinisch schwere GvHD Grad III - IV zeigten 5/17 Patienten (29,4 %) der ersten Gruppe und 3/15 (20 %) der zweiten. In der dritten Gruppe waren 2/13 (15,2 %) von schwerer aGvHD betroffen, $p = 0,637$.

Überleben:

Die Überlebensrate betrug in Gruppe 1 7/17 (41,2 %) und die mittlere Überlebenszeit liegt mit $22,4 \pm 5,4$ Monaten niedriger als in Gruppe 2 ($33,3 \pm 5,5$ Monate); es lebten zum Ende des Beobachtungszeitraumes 9/15 Patienten (60 %). Gruppe 3 wies eine Überlebensrate von 7/14 (50 %) auf und die geschätzte Überlebenszeit betrug $26,8 \pm 4,6$ Monate, $p = 0,924$.

Engraftment

In der ersten Gruppe verging mehr Zeit ($19,9 \pm 7,9$ Tage) bis zum Leukozyten-engraftment als in den Gruppen 2 und 3 ($14,5 \pm 2,4$ und $14,2 \pm 4,0$ Tage). Das Thrombozyten-engraftment wurde in der ersten Gruppe nach $21,0 \pm 7,3$ Tagen erreicht, in der zweiten Gruppe nach $18,4 \pm 6,0$ und in der dritten Gruppe nach $21,9 \pm 18$ Tagen, s. Tab. 5.8.

T-Zell-Menge (CD-3+)

Bei $n = 38$ Patienten liegen Informationen darüber vor, wie viele T-Zellen, also CD-3+ Zellen sie durch die SZT erhalten haben. Die Patienten wurden je nach Zellmenge in drei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 ($n = 11$) erhielt ≤ 250 , die Gruppe 2 ($n = 15$) 251 - 350 und Gruppe 3 ($n = 12$) eine Menge von über 350 CD-3+ $\times 10^6$ Zellen pro kg KG.

aGvHD-Raten:

In der Gruppe 1 wurde eine Inzidenz klinisch relevanter aGvHD Grad II - IV von 7/11 (63,6 %) beobachtet, in Gruppe 2 lag diese bei 5/15 (33,3 %) und in der dritten Gruppe bei 9/12 (75 %), $p = 0,077$.

Schwere GvHD Grad III - IV trat bei 3/11 Patienten (27,3 %) der Gruppe 1 auf, bei 2/15 in der Gruppe 2 (13,3 %) und bei 3/12 (25 %) in der Gruppe 3. Diese Raten unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, $p = 0,636$. Die 7 Patienten, deren CD-3+ Zellzahl nicht bekannt ist, entwickelten in einem Fall eine GvHD zweiten Grades und zwei Mal lag bei ihnen eine klinisch schwere GvHD vor.

Überleben:

In der Gruppe 1 mit der niedrigsten CD-3+ Menge lebten am Ende des Beobachtungszeitraumes 5/11 Patienten (45,5 %) und ihre mittlere Überlebenszeit betrug $22,9 \pm 5,6$ Monate. Die Gruppe 2 zeigte eine durchschnittliche Überlebenserwartung von $29,6 \pm 5,7$ Monaten und wies eine Überlebensrate von 8/15 (53,3 %) auf. In der Gruppe 3 lag die Überlebenszeit bei $27,8 \pm 5,6$ Monaten und die Überlebensrate war 6/13 (46,2 %), $p = 0,840$.

5.9.6 CMV-Reaktivierung bzw. -Infektion

Bei 18/45 Patienten (40 %) wurde eine Reaktivierung des Zytomegalievirus festgestellt. Ein Patient konnte aufgrund des sehr frühen Todes am Tag +29 hinsichtlich der CMV-Reaktivierung nicht berücksichtigt werden, deswegen gehen 44 Patienten in diese Be-

trachtung ein.

aGvHD-Raten:

27 Patienten bildeten die Gruppe ohne CMV-Reaktivierung nach der Transplantation. Die übrigen 17 Patienten wiesen im Verlauf eine CMV-Antigenämie auf.

Eine klinisch relevante GvHD Grad II- -IV zeigten 11/27 (40,7 %) der Patienten ohne CMV-Antigenämie im Vergleich zu 13/17 (76,5 %) der Patienten mit CMV-Antigenämie. Dieser Unterschied ist mit $p = 0,03$ signifikant, s. Abb. 5.14. Dasselbe Signifikanzniveau von $p = 0,03$ ergibt sich aus der Verteilung der schweren GvHD-Grade III - IV auf beide Gruppen. In der Gruppe ohne CMV-Reaktivierung lag die Rate schwerer GvHD mit 3/27 Fällen bei 11,1 %, die Gruppe der Patienten mit CMV-Antigenämie entwickelte in 7/17 Fällen (41,2 %) eine schwere GvHD.

Überleben:

In der Gruppe ohne CMV-Reaktivierung überlebten den Beobachtungszeitraum 17/27 Patienten (63 %), in der Gruppe mit CMV-Reaktivierung waren es 6/18 (33,3 %). Für die erste Gruppe ergibt sich daraus eine geschätzte mittlere Überlebensdauer von $34,4 \pm 4,2$ Monaten und für die zweite Gruppe von $21,9 \pm 4,8$ Monaten, s. Abb. 5.15. Hier zeigte sich eine Signifikanz von $p = 0,06$.

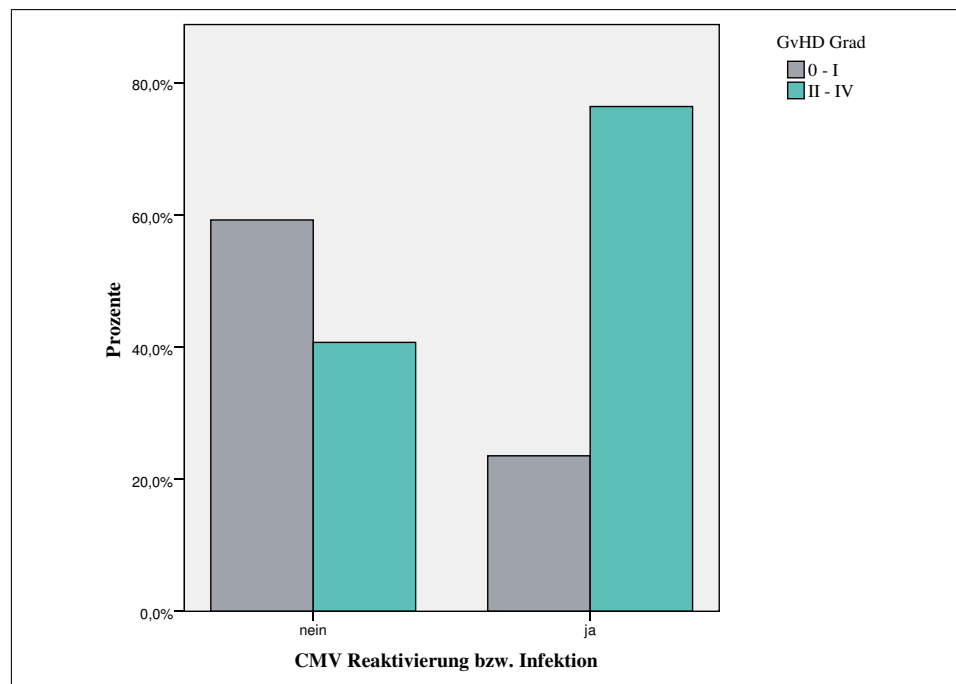


Abbildung 5.14: Zusammenhang zwischen CMV-Antigenämie und klinisch relevanter GvHD

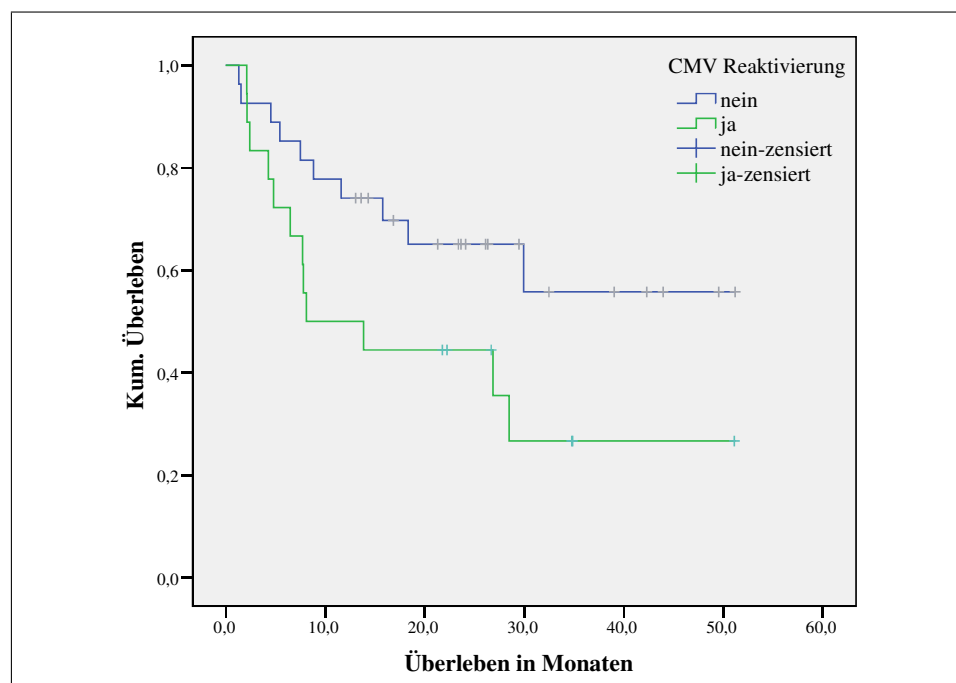


Abbildung 5.15: Überleben in Abhängigkeit von der CMV-Antigenämie in Monaten

CD-34+ Menge		Tag des engraftments
$\leq 5,0$	n = 17	$19,9 \pm 7,9$
5,0 - 7,0	n = 15	$14,5 \pm 2,4$
$\geq 7,0$	n = 13	$14,2 \pm 4,0$

Tabelle 5.8: Zeitpunkt des engraftments, Zellmengen in $X \times 10^6/\text{kg KG}$

6 Diskussion

6.1 Einführung

Neben Rezidiven der malignen Grunderkrankung ist die akute graft-versus-host disease (GvHD) die häufigste Todesursache in den ersten Monaten nach allogener Stammzelltransplantation. Deshalb erscheint es sinnvoll, eine effektive medikamentöse Prophylaxe der GvHD zu betreiben. Diese soll das Auftreten von GvHD verhindern oder deren Schweregrad reduzieren und so die Mortalität der Patienten senken. Die akute GvHD bedingt eine höhere Anfälligkeit für Komplikationen wie z.B. Infektionen oder Organtoxizitäten. Die Wahrscheinlichkeit von chronischer GvHD ist bei akuter GvHD erhöht und somit verschlechtert sich im Gesamten die Prognose der Patienten.

Gleichzeitig ist an die GvHD jedoch der protektive GvL-Effekt gekoppelt, der aufgrund immunologischer Prozesse die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs deutlich mindert. Bisher ist es der Forschung nicht gelungen, die GvHD zuverlässig vom GvL-Effekt zu trennen, so dass eine Vermeidung von GvHD meist auch eine Reduktion des GvL-Effekts mit sich bringt. Beide Effekte müssen daher bei der Erprobung neuer Immunsuppressiva gegeneinander abgewogen werden.

In der vorliegenden Studie wurde eine dreifache Immunsuppression durchgeführt, indem EC-MPS oral zusätzlich zur zweifachen Standard-GvHD-Prophylaxe, bestehend aus CSA und MTX oder CSA und ATG, verabreicht wurde. Die Studie wurde unter prospektiven Bedingungen an Patienten mit erhöhtem GvHD Risiko nach Fremdspender-Stammzelltransplantation mit oder ohne HLA-mismatch durchgeführt. Die Inzidenz und der Schweregrad von akuter GvHD wurden ermittelt und im Verlauf beobachtet.

Die Ziele der Studie waren die Ermittlung der Verträglichkeit der Studienmedikation, die Reduktion der GvHD-Raten und der Senkung der Gesamtmortalität.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

Applizierbarkeit von EC-MPS:

Zeitweise war es bei 16/46 (34,8 %) Patienten notwendig, auf das i.v. verfügbare MMF auszuweichen, weil bei ihnen Schluckbeschwerden durch Mukositis oder andere Einnahmeprobleme bestanden. Von diesen 16 Patienten wurden 13 (81 %) nach Abklingen der behindernden Symptomatik auf die orale Medikation mit EC-MPS umgestellt. Insgesamt haben 30/46 (65,2 %) der Patienten durchgehend und 13/46 (28,1 %) nach initialer i.v. Therapie die orale Studienmedikation erhalten, das sind insgesamt 93,3 %. Es ist anzunehmen, dass die meist zeitweilige Umstellung auf intravenöses MMF keinen störenden Einfluss auf die Medikation mit der Substanz Mykophenolat hatte, weil in mehreren klinischen Studien eine vergleichbare Effektivität von EC-MPS und MMF aufgezeigt wurde (Budde *et al.* 2007, Salvadori *et al.* 2004).

Da es Hinweise darauf gibt, dass die Bioverfügbarkeit von MPS bei Patienten nach allogener SZT niedriger ist als bei Patienten mit Zustand nach solider Organtransplantation, wurden Studien zur optimalen Dosierung bei SZT-Patienten durchgeführt. Nash *et al.* ermittelten, dass mit einer Dosierung von 45 mg täglich pro kg KG bei Empfängern von Stammzelltransplantaten der gleiche Wirkspiegel wie bei Empfängern solider Organtransplantationen erreicht werden kann. Auch beobachtete man bei dieser Dosierung die niedrigste GvHD-Rate (30-62 % Grad II - IV) bei gleichzeitig niedriger Nebenwirkungsbelastung. Eine Dosierung von 45 mg/kg täglich ergibt bei einem Körpergewicht von 70 kg ca. eine tägliche MMF-Dosis von 3g. In der vorliegenden Studie erfolgte die Applikation von 1440 mg MPS/d, was einer MMF-Dosis von 2g/d entspricht (Budde *et al.* 2004). Eine höhere Dosis als 3g/d führt laut Nash zu erheblich gesteigerten NW-Raten und paradoxerweise auch zu erhöhten GvHD-Raten. Außerdem wurde in der Nash-Studie darauf hingewiesen, dass Patienten mit nachgewiesener

GvHD meist niedrigere Wirkstoffspiegel bei gleicher Dosierung aufwiesen als Patienten ohne GvHD-Symptome. Auf S. 19 sind die grundsätzlichen Unterschiede der Pharmakokinetik bei verschiedenen Patientengruppen aufgeführt. Diese Problematik lässt es günstig erscheinen, in zukünftigen Studien über MPS bzw. MMF bei allogenen SZT Patienten regelmäßige Wirkstoffspiegelkontrollen durchzuführen.

Nebenwirkungen von EC-MPS traten zum einen als neurotoxische Schäden und zum anderen im Verdauungstrakt auf, wo sie sich in Form von Übelkeit und Erbrechen äußerten.

GIT-Nebenwirkungen: Im Gegensatz zum oral und i.v. verfügbaren Mykophenolat mofetil, das seinen aktiven Metabolit bereits im oberen Gastrointestinaltrakt abgibt, wurde in dieser Studie EC-MPS verwendet, das den letztendlich aktiven Wirkmetabolit im Dünndarm freisetzt. Diese Darreichungsform soll weniger Nebenwirkungen auslösen, speziell im oberen Gastrointestinaltrakt wie Übelkeit, Erbrechen oder Reflux.

Die Rate gastrointestinaler Nebenwirkungen lässt sich allerdings nur bedingt mit MMF-Studien vergleichen, da es für MMF sehr verschiedene Angaben über die Häufigkeit von gastrointestinalen Nebenwirkungen gibt, die sich wiederum je nach Patientenkollativ und Art der Transplantation unterscheiden. Bei soliden Organ-Transplantationen treten Bauchschmerzen in 11-26 % der Fälle auf, Übelkeit in 4-54 %, Erbrechen in 2-34 % und Durchfall in 13-45 % (Vogelsang und Arai 2001). Bei Empfängern einer SZT ergibt sich zusätzlich das Problem, dass diese Nebenwirkungen grundsätzlich auch durch andere Medikamente des Konditionierungsregimes oder durch eine GvHD hervorgerufen werden können. Deswegen wurden in der vorliegenden Studie Nebenwirkungen dann als MPS-bedingt gewertet, wenn sie in unmittelbarem zeitlichen Zusammenhang mit der Medikation beobachtet wurden. Die gastrointestinale Nebenwirkungsrate von 8,7 % unter EC-MPS ist als zufriedenstellend niedrig zu bewerten. In einer Studie an Patienten nach nicht-verwandter nonmyeloablativer SZT wurden in 8,2 % der Fälle schweregradige obere GIT-NW dokumentiert, die eindeutig MMF zugeschrieben wurden (Giaccone *et al.* 2005). Diese Häufigkeit gastrointestinaler Nebenwirkungen deckt sich mit der Häufigkeit in der MPS-Studie. EC-MPS scheint genauso oft zu diesen Nebenwirkungen

zu führen wie MMF. In der vorliegenden Studie wurden jedoch keine schweren Episoden von Übelkeit und Erbrechen beobachtet; der höchste aufgetretene CTC Grad war Schweregrad 2 und somit lag nur eine mäßige Beeinträchtigung der betroffenen Patienten vor. Eine vergleichende Studie von MMF und MPS bei SZT Patienten würde hier genauere Daten liefern.

Es gibt bereits Studien, die MMF und EC-MPS bei Organtransplantationen verglichen haben. Hardinger *et al.* beobachteten nach Nieren- und Pankreas-Transplantationen eine niedrigere Rate an oberen gastrointestinalen NW unter EC-MPS im Vergleich zu MMF, nämlich 7 % vs. 13 %, dieser Unterschied war allerdings nicht statistisch signifikant (Hardinger *et al.* 2008). Andere Studien beschreiben eine gleich hohe Inzidenz von GIT-NW bei EC-MPS und MMF, z.B. unterschied sich die Rate an oberen GIT-NW für MPS bei stabilen Nieren-Transplantierten mit 26 % nicht signifikant von der von MMF (21 %) (Budde *et al.* 2007). In einer Studie an SZT-Patienten mit MMF-Medikation wurden im Vergleich zu einer historischen Kontrollgruppe ohne diese Medikation keine Nebenwirkungen beobachtet, die man klar MMF zuschrieb (Nash *et al.* 2005).

Neurotoxizität: Die fortschreitende Tremorsymptomatik des einen Patienten, wegen der MPS abgesetzt wurde, scheint nicht durch MPS verursacht worden zu sein und ist eher als Symptom der später diagnostizierten Leukenzephalopathie zu deuten. Der andere Fall neurotoxischer Nebenwirkungen ist aufgrund der engen zeitlichen Beziehung von Symptomen und Medikation auf MPS als Ursache zurückzuführen. Dies ist ungewöhnlich, weil Neurotoxizität eigentlich nicht zum bekannten Nebenwirkungsspektrum von MPS bzw. MMF zählen, s. Kap. 2.4.4. Wahrscheinlicher scheint die Ursache bei anderen Medikamenten der GvHD-Prophylaxe zu liegen, die häufiger solche Nebenwirkungen aufweisen, z.B. CSA, s. Kap. 2.3. Es gab jedoch bereits Fälle, in denen MMF zu depressiven Episoden geführt hat (Draper 2008). Deshalb sollte man in Betracht ziehen, dass auch andere zentralnervöse Symptome durch MMF bzw. MPS hervorgerufen werden können. In einigen Studien wird beschrieben, dass MPS durch ein Aufteilen der täglichen Wirkstoffmenge in 3 Teilmengen weniger Nebenwirkungen auslöst als bei Gabe von zwei Teilmengen (Behrend 2001). Diese Strategie wurde in der vorliegenden

Studie nicht angewendet, könnte aber in künftigen Studien in Betracht gezogen werden.

Applikationsdauer von EC-MPS: In dieser Studie wurde EC-MPS ab dem zehnten Tag nach SZT verabreicht. Dies hatte den logischen Hintergrund, dass einerseits das engraftment in den ersten Tagen nicht durch eine Verzögerung der Zellteilung des hämatopoetischen Systems gehemmt werden sollte. Andererseits sollte die medikamentöse GvHD-Prophylaxe erst zu dem Zeitpunkt verabreicht werden, wenn üblicherweise aGvHD beginnt aufzutreten. In anderen Studien ist es dagegen üblich mit der MMF-Medikation direkt am Tag der SZT zu beginnen. Tatsächlich entwickelten lediglich 6,2 % der Patienten vor Tag +10 GvHD-Symptome. Damit erscheint die Verabreichung von MPS ab dem zehnten Tag nach SZT plausibel. In allen zum Vergleich herangezogenen Studien erfolgte jedoch die MMF-Medikation ab dem ersten Tag nach SZT und es wurde dort ebenfalls ein suffizientes und zügiges engraftment der Transplantate beobachtet. Es erscheint demnach keinen Vorteil zu haben, mit der MPS-Applikation erst am 10. Tag nach SZT zu beginnen.

Um die **Langzeitverträglichkeit** von MPS zu analysieren, wurde das outcome der Patienten verglichen, die die Studienmedikation insgesamt länger oder kürzer als 100 Tage erhalten haben. Dieser Stichtag wurde aufgrund der vergleichbar großen Gruppen (jeweils $n = 20$) gewählt und die frühen Todesfälle bis Tag 100 nach SZT wurden nicht berücksichtigt. Der bezüglich seiner GvHD zensierte Patient gehörte zu der Gruppe mit der kürzeren Applikationsdauer. Es zeigte sich, dass GvHD-Inzidenz in der Gruppe, die MPS über den kürzeren Zeitraum erhalten hatte, für Grad II - IV mit 8/19 (42,1 %) etwas niedriger lag als in der Gruppe mit längerer MPS-Gabe. Letztere wies eine Inzidenz akuter GvHD II - IV von 11/20 (55 %) auf. Diese ungleiche Verteilung ergibt sich aus der Tatsache, dass die Dauer der Medikation sich nach dem Schweregrad der GvHD richtete - je stärker sie ausgeprägt war, desto später wurde MPS abgesetzt. Die schwere GvHD trat in beiden Gruppen ähnlich häufig auf: Unter den Patienten mit kürzerer Gabe als bis Tag +100 fanden sich 2 schwere GvHD-Verläufe, in der Vergleichsgruppe waren es drei. Unter der dreifachen Immunsuppression mit MPS gab es 5/10 Patienten mit schwerer GvHD, die länger als 100 Tage überlebten.

Um Infektionsraten in Abhängigkeit von der Dauer des MPS-Medikation zu beurteilen,

	≤ 100 d	≥ 100 d
aGvHD Grad II - IV	8/19 42,1 %	11/20 55 %
aGvHD Grad III - IV	2/19 10,5 %	2/20 15 %
CMV-Antigenämie	8/20 40 %	2/20 35 %
Überleben	11/20 55 %	12/20 60 %

Tabelle 6.1: Applikationsdauer von EC-MPS und Outcome der Patienten

wurden beide Gruppen hinsichtlich der CMV-Reaktivierungsrate beurteilt, um zu prüfen, ob die dreifache GvHD-Prophylaxe über einen längeren Zeitraum sicher ist oder eine erhöhte Infektanfälligkeit gegenüber der konventionellen zweifachen Prophylaxe besteht.

Dabei war die Rate an CMV-Reaktivierung auf beide Gruppen gleichmäßig verteilt: in der Gruppe mit kürzerer MPS-Gabe entwickelten 8/20 Patienten eine Antigenämie (40 %) und 7/20 (35 %) in der Gruppe mit der längeren Applikationsdauer. Das bedeutet, dass die Applikationsdauer von MPS keinen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit einer CMV-Reaktivierung hat und somit bei Bedarf auch über einen längeren Zeitraum ohne zusätzliches Risiko verabreicht werden kann.

Ebenso gab es keinen deutlichen Unterschied bei der Überlebenswahrscheinlichkeit bei der Gruppen: In der Gruppe mit der kürzeren MPS-Gabe lebten zum Ende des Beobachtungszeitraumes 11/20 Patienten (55 %) und in der Vergleichsgruppe 12/20 (60 %). Zum Ende des Beobachtungszeitraumes näherten sich die Überlebenskurven einander fast völlig an, s. Abb. 6.1.

Es scheint keine hier erkennbaren negativen Folgen zu haben, wenn Patienten über einen längeren Zeitraum hinweg mit EC-MPS behandelt werden. Der zeitliche Verlauf des Absetzens bzw. Ausschleichens von MPS wies eine große Varianz auf, s. Kap. 5.1. Das ist darauf zurückzuführen, dass die Gabe des Medikaments nur bei nachlassender GvHD-Symptomatik gemindert oder ganz abgesetzt wurde. Außerdem spielten Infekte

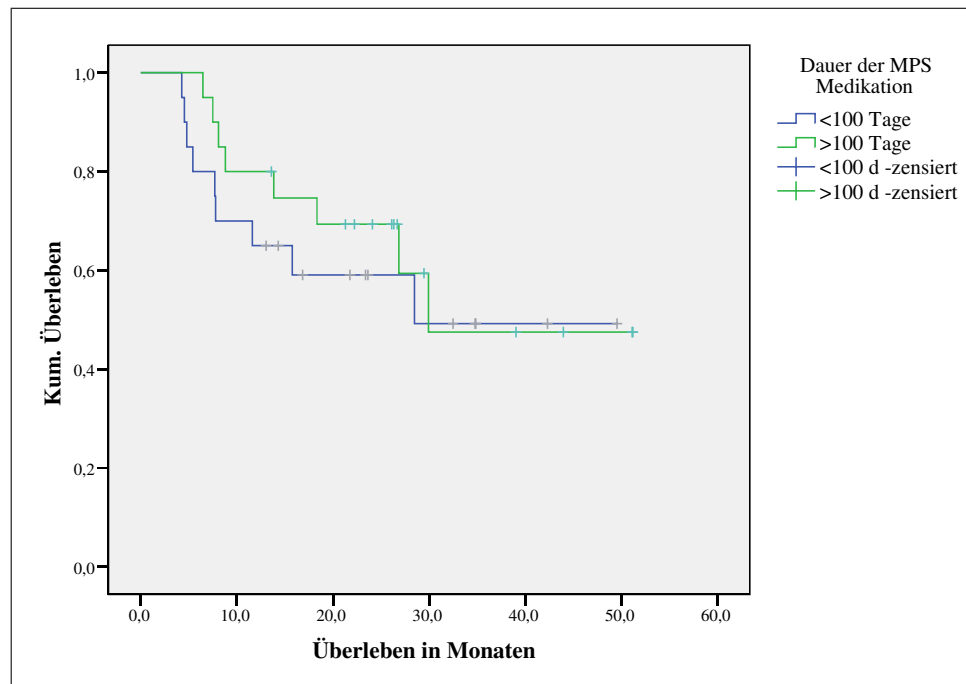


Abbildung 6.1: Überleben in Abhängigkeit von der Dauer der MPS-Medikation

oder Rezidive eine Rolle, wenn die Immunsuppression reduziert werden sollte, um diese besser abwehren zu können.

Engraftment: Da MPS in den Purinstoffwechsel eingreift, führt es bei Empfängern solider Organtransplantationen zu Knochenmarksdepression. Deshalb stellt sich die Frage, ob MPS auch nach SZT verzögernd auf die Geschwindigkeit der hämatopoetischen Rekonstitution wirkt. Bei Empfängern solider Organtransplantationen ist als Nebenwirkung von MPS eine Hemmung von Erythro-, Leuko- und Thrombopoese beobachtet worden, fraglich ist ob dieser Effekt ebenfalls bzw. insbesondere bei Patienten nach SZT auftritt. Die beschriebenen Raten bei diesen Patienten betragen 11-35 % für Leukopenie, 4-39 % für Anämie und 3-9 % für Thrombozytopenie (Vogelsang und Arai 2001).

Leukozyten: Wie oben bereits erwähnt, sollte durch den Beginn der MPS-Medikation ab Tag +10 nach SZT eine Verzögerung des engraftments durch MPS vermieden werden. In der MPS-Studie wurde das Leukozytenengraftment durchschnittlich nach 16 ± 6 Tagen (Range von 9-35) verzeichnet, s. Kap. 5.5. In einer aktuellen Studie wird ein

verzögertes engraftment durch MMF beschrieben, nämlich an Tag 20 statt wie erwartet an Tag 14 (Schleuning *et al.* 2009). Auf ähnliche Weise ist auch in der MPS-Studie das engraftment um etwa 3 Tage verzögert eingetreten. Eine Erhöhung der 100-Tage-Mortalität trat jedoch nicht auf; auch eine besondere infektiologische Komplikationsrate in den ersten Tagen nach SZT wurde nicht beobachtet.

Thrombozyten: Das engraftment der Thrombozyten fand bei im Durchschnitt am Tag 20 ± 11 (Range 9-70) statt. In anderen Studien, bei denen MMF bereits ab dem ersten Tag nach SZT verabreicht wurde, wurde keine Verzögerung des Thrombozyten-engraftments beobachtet. Laut diesen Studien stellt ein verzögertes engraftment von Leuko- und Thrombozyten keine typische Nebenwirkung von MMF für SZT-Patienten dar (Haentzschel *et al.* 2008, Ostronoff *et al.* 2009, Nash *et al.* 2005). Das relativ späte Thrombozyten-engraftment der MPS-Studie unterscheidet sich jedoch deutlich von den Werten der anderen Studien, Nash *et al.* z.B. beschreiben ein mittleres Thrombozyten-engraftment am 10. Tag *post transplantationem*. Im Vergleich mit solchen Studien scheint das engraftment beider Zelllinien verzögert. Da in der retrospektiven Vorgängerstudie von Kasper *et al.* unter vergleichbaren i.v. Medikationsbedingungen jedoch das Leukozytenengraftment im Mittel am 12. Tag nach SZT stattfand und das Thrombozytenengraftment nach 14,5 Tagen folgte, scheint diese Verzögerung nicht durch MMF oder MPS bedingt zu sein. Es gab in dieser Studie einen positiven Zusammenhang zwischen der transplantierten CD-34+ Menge und dem Leukozytenengraftment.

Insgesamt erfolgte ein suffizientes engraftment in 97,8 % der Fälle, bei einem Patient kam es zu Transplantatversagen. Diese Rate ist vergleichbar mit den zitierten Studien.

Effektivität des MPS - Inzidenz und Schweregrad der akuten GvHD: Nach einer großen Studie an 196 Patienten ohne MPS in der GvHD-Prophylaxe beschreiben Hansen *et al.* folgende Raten: Findet die SZT zwischen nicht verwandten Individuen wie in der vorliegenden Studie statt, liegt ein hohes GvHD-Risiko vor. Es wird bei einer match Situation in etwa eine Rate von 70-80 % akuter GvHD Grad II - IV erwartet, in der mismatch-Situation steigt diese Rate auf ca. 90 %. Für schwere aGvHD Grad III - IV liegen diese Erwartungswerte bei 35-50 % (Hansen *et al.* 1998).

In der Studie von Nash *et al.* werden unter zweifacher Immunsuppression (MMF und CSA) nach myeloablativer Konditionierung (bestehend aus TBI und/oder Busulfan) ähnliche Werte beobachtet wie in der MPS-Studie (62 % Grad II - IV und 16 % Grad III - IV) (Nash *et al.* 2005). In einer kleinen Studie werden unter zweifacher GvHD Prophylaxe aus CSA und MMF bei ähnlichem GvHD-Risiko wie in der MPS-Studie GvHD-Raten von 53 % für Grad II - IV und 23 % für Grad III - IV beschrieben (Perez-Simon *et al.* 2008).

In der vorliegenden MPS-Studie zeigten 24/46 Patienten (53,3 %) unter der dreifachen Immunsuppression eine klinisch relevante aGvHD Grad II - IV, davon waren 10/46 Fälle (22,2 %) schwergradig. Diese Raten fallen somit niedriger aus als von Hansen *et al.* erwartet. Sie decken sich etwa mit den Erwartungswerten von Studien, in denen MMF zur GvHD-Prophylaxe bei unverwandten Spendern im Rahmen einer zweifachen Immunsuppression nach SZT eingesetzt wurde. Allerdings zeigt sich kein Benefit der dreifachen Immunsuppression im direkten Vergleich mit der zweifachen.

In Studien, bei denen den Patienten verschiedene zweifache GvHD-Prophylaxe-Regime verabreicht wurden (CSA+MTX vs. CSA+MMF), konnte für MMF keine signifikante Reduktion der GvHD-Raten und des Gesamtüberlebens festgestellt werden (Nash *et al.* 2005), aber Ostronoff *et al.* konnten unter CSA und MMF ein schnelleres engraftment und weniger Nebenwirkungen feststellen als unter CSA und MTX, was zu einer früheren Entlassung der Patienten aus dem Krankenhaus führte. Unter MTX wurden häufiger gastrointestinale Toxizität und verzögertes engraftment beobachtet, was sogar zum Studienabbruch und einer weiteren Behandlung aller eingeschlossener Patienten mit MMF führte (Ostronoff *et al.* 2009). Nash *et al.* empfehlen die Gabe von MMF statt MTX für Patienten mit Kontraindikationen für MTX, z.B. Leber- oder Niereninsuffizienz und Pleuraerguss.

Die dreifache GvHD-Prophylaxe der MPS-Studie ist ähnlich sicher und wirksam wie die zweifache Immunsuppression mit CSA und MTX oder CSA und MMF. Da sie keine deutlichen Vorteile gegenüber der zweifachen Prophylaxe bietet, sollte man sich bei Patienten mit HLA-kompatiblen Transplantaten (10/10) vielleicht für letztere ent-

scheiden, um gleichzeitig Nebenwirkungen und Kosten zu sparen. In einer mismatch-Situation sollte jedoch auf eine GvHD-Prophylaxe eingesetzt werden, die dem erhöhten GvHD Risiko angepasst ist und evtl. aus drei Komponenten besteht. Das Nebenwirkungsprofil von MPS ist im Vergleich zu MTX weniger schwerwiegend, deshalb erscheint es sinnvoll der Kombination aus CSA und MPS oder MMF häufiger den Vorzug zu geben.

Zusammenhang zwischen aGVHD und Mortalität: Um den prognostischen Wert des GvHD Schweregrades zu erhöhen, ist es allgemein üblich die Schweregrade zu dichotomisieren, also zu zwei Gruppen zusammenzufassen. Wählt man hierzu die von Glucksberg vorgeschlagene Unterteilung in Grad 0 - I (leichter Verlauf) und Grad II - IV (klinisch relevant), erscheint dieser prognostische Wert des GvHD-Grades in dieser Studie relativ gering, da es keine signifikanten Zusammenhang zwischen Überleben und dieser Schweregradeinteilung gibt. Wird die Dichotomisierung dagegen anhand der Schweregrade 0 - II (milder Verlauf) und III - IV (schwerer Verlauf) vorgenommen, ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Mortalität und Schweregrad, nämlich 80 vs. 40 % mit $p = 0,035$.

Rezidive und Schweregrad der GvHD: 4/13 Patienten (31 %) ohne akute GvHD und 3/8 (37 %) der Patienten mit aGvHD Grad I entwickelten im Verlauf nach der SZT einen Rezidiv, was am mangelnden bzw. ausbleibenden GvL-Effekt der Spender-T-Zellen liegen könnte, der normalerweise an eine GvHD gekoppelt ist. Am niedrigsten lag die Mortalität in der Gruppe mit akuter GvHD zweiten Grades. In dieser Gruppe zeichnet sich eine niedrigere Rezidivrate ab als in den vorher genannten Gruppen, ebenso wie die beste Überlebenschance (72 %). Somit scheint für die Patienten der MPS-Studie eine akute GvHD Grad II ein prognostisch günstiger Umstand zu sein, weil sich hier möglicherweise der beste GvL-Effekt in Kombination mit einem benignen GvHD-Verlauf findet.

Dass Rezidive bei Patienten mit GvHD nach SZT seltener sind als bei Patienten ohne GvHD, ist seit längerem bekannt und wissenschaftlich gesichert (Ringden *et al.* 1988, Weiden *et al.* 1979). In manchen Studien wird dieser positive Effekt der GvHD je-

doch durch die Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität aufgehoben, sodass die Gesamtmortalität in beiden Fällen gleich hoch ist (Weiden *et al.* 1979). Aktuellere Studien belegen jedoch, dass eine milde akute GvHD Grad I - II durch ihren GvL-Effekt zu einem besseren Gesamtüberleben führt (Grigg *et al.* 1999, Lin *et al.* 2006). Gerade Patienten mit erhöhtem Rezidivrisiko bei fortgeschrittener Grunderkrankung (advanced disease, high risk) profitieren von der akuten GvHD. Bei Lin *et al.* wird kein Zusammenhang zwischen GvHD-Schweregrad und verbessertem Überleben festgestellt. Dagegen zeigt eine andere, große japanische Studie, dass der GvHD-Schweregrad I mit signifikant verbessertem Überleben bei Patienten nach allogener SZT bei fortgeschrittener Grunderkrankung verbunden ist im Vergleich zu den Schweregraden 0 und II (Kataoka *et al.* 2004). Als mögliche Ursache der erhöhten Mortalität bei Schweregrad II wird vermutet, dass der GvL-Effekt durch die medikamentöse Therapie der GvHD ab Schweregrad II ebenfalls beeinträchtigt wird. Dass die Rezidivrate in der vorliegenden Studie bei GvHD Grad I höher war als bei Grad 0 und II ist eher ungewöhnlich. Außerdem sinkt bei den Patienten zwar die Mortalität bei GvHD Grad II, trotzdem stellen Rezidive in drei von vier der Fälle die Todesursache dar. Dies könnte wie bei Kataoka *et al.* vermutet an der Unterdrückung des GvL-Effekts durch die GvHD-Therapie liegen. Mit den bereits erwähnten Studien zu diesem Thema stimmt aber das Ergebnis überein, dass ein milder GvHD-Verlauf für das Gesamtüberleben der Patienten positiv ist. Dagegen wurde eine erwartungsgemäß hohe Mortalität in den Gruppen mit Schweregrad III und IV beobachtet.

Es wurden in dieser Studie ausschließlich Rezidive in Kombination mit mildem oder fehlendem GvHD-Verlauf beobachtet. In Kombination mit schwergradiger GvHD traten keine Rezidive auf. Dies ist einerseits auf die als rezidivprotektive Wirkung von GvHD- und den GvL-Effekt zurückzuführen, aber auch auf die deutlich verkürzte Überlebenszeit bei schwergradiger GvHD (Die mediane Überlebenserwartung lag für Schweregrad III bei $14 \pm 5,7$ und für Grad IV bei $2,7 \pm 0,5$ Monaten). Auch diese Beobachtung deckt sich mit den großen Studien (Kataoka *et al.* 2004, Lin *et al.* 2006).

Chronische GvHD: In anderen Studien an Patienten, die nicht verwandte Transplan-

tate erhielten, liegt vor allem die Rate an extensiver cGvHD wesentlich höher als in der MPS-Studie, z.B. beschreiben Hansen *et al.* eine Rate von 67 %. Generell wird eine cGvHD laut Vogelsang *et al.* bei 40-60 % der Patienten nach einer SZT erwartet, besondere Risikofaktoren sind ein höheres Patientenalter, peripheres Blut als Stammzellquelle, Donor Lymphozyten Infusionen, HLA-Inkompatibilität von Spender und Empfänger und unverwandte Spender.

So ist es in der MPS-Studie nicht gelungen, die absolute Rate an chronischer GvHD durch die dreifache Immunsuppression deutlich zu senken (im Vergleich zur üblichen zweifachen Immunsuppression). Der Anteil der prognostisch ungünstigen extensiven Form konnte aber deutlich reduziert werden, nämlich auf 12,8,%. Perez-Simon *et al.* beobachteten in einer kleineren Studie (n = 44) an einem ähnlich risikobehafteten Patientenkollektiv unter zweifacher Immunsuppression durch CSA und MMF nach RIC eine cGvHD Inzidenz von insgesamt 93 %, wobei der Anteil an extensiver cGvHD bei 63 % lag. Hier könnte das dreifache GvHD-Prophylaxeregime einen Vorteil gegenüber der zweifachen Immunsuppression bewirkt haben. Die Reduktion extensiver cGvHD ist mit erheblichem Gewinn an Lebensqualität für die Patienten verbunden und deshalb anzustreben. Auswirkungen des Schweregrades der cGvHD auf das Gesamtüberleben wurden nicht beobachtet. Man sollte in Zukunft den Vorteil einer niedrigeren Rate an extensiver cGvHD gegen die vermutlich stärkeren Nebenwirkungen der dreifachen Prophylaxe abwägen. Auch wenn die cGvHD das Gesamtüberleben in der vorliegenden Studie nicht beeinflusste, so sank doch die Rezidivwahrscheinlichkeit mit steigendem Schweregrad der cGvHD. Diese Beobachtungen decken sich mit denen von Grigg *et al.*, die darüber hinaus auch einen positiven Effekt der cGvHD für das Gesamtüberleben feststellten. Kataoka *et al.* dagegen sahen keinen Zusammenhang zwischen chronischer GvHD und einer verbesserten Überlebenserwartung.

Überleben: Zum Ende des Beobachtungszeitraums, der im Mittel 32 Monate lang war (Range 13-51), lebten 23/46 Studienpatienten (50 %). Das rezidivfreie Überleben betrug 19/46 (41,3 %). Dies ist eine ähnliche Überlebensrate wie in der Vorgängerstudie von Kasper *et al.*, in der die Überlebensrate nach einem mittleren Beobachtungszeitraum

von 28 Monaten bei 53,5 % lag und eine rezidivfreie Überlebensrate von 50 % beobachtet wurde (Kasper *et al.* 2004). Ein Vergleich mit anderen Studien fällt wegen der meist unterschiedlich langen Beobachtungszeiträume schwer. Bei Crocchiolo *et al.* wird in einer sehr umfangreichen Population ($n = 805$) eine 2-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 54 % bei einem 9/10 HLA-match und von 63 % bei einem 10/10 HLA-match für Patienten in erster kompletter Remission beschrieben. Für Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung liegt diese Rate bei ca. 40 % unabhängig vom HLA-match (Crocchiolo *et al.* 2009). Diese Raten wurden unter üblicher GvHD-Prophylaxe ohne MMF bzw. MPS beobachtet.

In der MPS-Studie überlebten 65 % der Patienten in erster kompletter Remission und 46 % der Patienten mit fortgeschrittener Grunderkrankung den im Vergleich zu Crocchiolo längeren Beobachtungszeitraum von 32 Monaten. Damit wurde in der MPS-Studie eine gute Überlebensquote erreicht, die für die Patienten mit CR trotz einer Quote von 5/17 (29 %) HLA-mismatches mit der Überlebenserwartung für die 10/10 match Situationen bei Crocchiolo übereinstimmt. Für die Patienten mit fortgeschrittener Grunderkrankung wurde in der MPS-Studie eine Überlebensquote von 46 % beobachtet, die höher lag als bei Crocchiolo *et al.*, s. Tab. 6.2.

In einer umfangreichen Studie von Pulsipher *et al.* ($n = 932$), die je ca. ein Drittel

	Patienten	Zeitraum	Überlebensraten
Crocchiolo <i>et al.</i> , 2009	$n = 805$	24 Monate	HLA-kompatibel- 63 % HLA-mismatch 9/10 - 54 % advanced disease- 40 %
Pulsipher <i>et al.</i> , 2009	$n = 932$	24 Monate	39 %
		36 Monate	33 %
MPS-Studie, 2010	$n = 46$	32 Monate	50 %, je standard risk 65 % advanced disease 46 %

Tabelle 6.2: Studienvergleich: Überlebenswahrscheinlichkeiten

Patienten mit niedrigem, mittlerem und hohem (advanced) Krankheitsrisiko enthielt,

wurde eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 39 % nach zwei und 33 % nach drei Jahren beobachtet (Pulsipher *et al.* 2009). Im Vergleich zu dieser aktuellen Studie war die Überlebenswahrscheinlichkeit der MPS-Studie höher. Dies weist auf eine gute Effektivität der durch MPS ergänzten Immunsuppression hin.

Todesursachen: Die akute GvHD spielt auch bei aktuellen Therapie-Schemata nach wie vor eine große Rolle bei der Patientenmortalität nach SZT. Auch in dieser Studie trug sie maßgeblich zur Patientensterblichkeit bei: In 10 Fällen bestand eine aGvHD zum Todeszeitpunkt, damit war die GvHD in dieser Studie trotz der dreifachen Immunsuppression ebenso häufig am Tod von Patienten beteiligt wie Rezidive. Diese Zahlen betonen erneut, dass eine Reduktion von aGVHD ein großes Ziel auf dem Weg zu niedrigerer Therapie-assoziiierter Mortalität nach Stammzelltransplantation darstellt.

Betrachtung nach Subgruppen

Einfluss der HLA-Kompatibilität auf aGvHD-Raten und Überleben: Die Inzidenz akuter GvHD lag zwar in der Gruppe mit HLA-mismatch höher als in der Gruppe mit HLA-kompatiblen Transplantaten, es wurde jedoch weder hier noch bei der Überlebenswahrscheinlichkeit ein signifikanter Unterschied beobachtet. Das Gesamtüberleben nach HLA-teilkompatibler SZT ist in den meisten vergleichenden Studien schlechter als das nach HLA-kompatibler SZT. Denn ein HLA-mismatch führt normalerweise *post transplantationem* häufiger zu Infektionen, verzögerter T-Zell-Rekonstitution und höheren GvHD-Raten (Nowak 2008, Anasetti 2008). Insofern ist es ein positives Ergebnis der MPS-Studie, dass Patienten trotz mismatch kein signifikant niedrigeres Überleben zeigten als die Vergleichsgruppe. Dieser Effekt kann auch auf die gute Wirksamkeit der dreifachen Immunsuppression zurückgeführt werden. Jedoch zeichnet sich ein Trend zu niedrigeren GvHD-Raten und besserem Überleben in der match-Gruppe ab und die fehlende Signifikanz des Unterschiedes kann auch durch die insgesamt zu niedrige Patientenanzahl bedingt sein.

Einfluss des Patientenalters auf aGVHD-Raten und Mortalität: Die Rate klinisch relevanter GvHD Grad II - IV lag in der jüngeren Patientengruppe signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe der älteren Patienten. Die Inzidenz schwerer aGv-

HD Grad III - IV unterschied sich nicht deutlich zwischen beiden Gruppen, die jüngeren Patienten bekamen häufiger die prognostisch günstige GvHD Grad II. Es wurde in der vorliegenden Studie für die jüngere Gruppe eine tendenziell bessere Überlebenserwartung festgestellt als für die ältere. Cornelissen *et al.* kommen ebenfalls zu dem Schluss, dass Patienten mit AML unter 40 ein besseres Outcome zeigen als ältere Patienten über 40 Jahren (Cornelissen *et al.* 2007); Grigg *et al.* beobachteten bei Patienten mit refraktärer Leukämie oder Rezidiv eine höhere Überlebensrate bei unter 40-Jährigen. Diese Beobachtung stimmt mit großen epidemiologischen Studien überein, die ein besseres Outcome für jüngere Patienten belegen (Grigg *et al.* 1999, Anasetti 2008). Das gute Outcome junger Patienten wird dort auf deren insgesamt besseren Gesundheitszustand mit wenig Komorbidität zurückgeführt. In der MPS-Studie lässt sich die unterschiedlich hohe Rate an GvHD in beiden Gruppen außerdem nicht klar vom Einfluss der Konditionierungsintensität trennen, weil 57 % in der jüngeren Gruppe aber nur 17 % in der älteren eine klassische Konditionierung erhielten. Die jüngeren Patienten der MPS-Studie entwickelten demnach deutlich häufiger eine akute GvHD als die älteren. Dies wirkte sich aber nicht negativ auf deren Gesamtüberleben aus.

Einfluss der Konditionierungsintensität auf aGvHD-Raten und Mortalität

Die Unterschiede der GvHD-Inzidenz sind bei Betrachtung der Konditionierungsintensität zwar nicht signifikant, aber der Trend zu niedrigerer GvHD-Inzidenz nach dosisreduzierter Konditionierung zeichnet sich ab. Dies erscheint vor dem Hintergrund verständlich, dass ein klassisches Konditionierungsregime stärkere Schäden z.B. am Verdauungstrakt der Patienten verursacht und somit zu höherer GvHD-Inzidenz führt. Denn über die geschädigte Magen-Darm-Barriere dringen verstärkt fremde Antigene in den Organismus ein, die die T-Zellen zu vermehrter Immunantwort anregen (Goker *et al.* 2001). Diese erhöhten GvHD-Raten nach klassischer Konditionierung sind in großen Studien belegt (Couri *et al.* 2004) und zählen mit zur therapie-assoziierten Mortalität, die üblicherweise nach klassischer Konditionierung höher ist als nach RIC. Auch unter dreifacher Immunsuppression mit MPS ändert sich die Tatsache nicht, dass die GvHD-Häufigkeit nach klassischer Konditionierung höher ist als nach dosisreduzier-

ter Konditionierung. Langfristig haben die Patienten nach klassischer Konditionierung jedoch ein vergleichbares Outcome, wie auch in dieser Studie: Es lebten zum Ende der Beobachtungszeit 56,5 % der klassisch konditionierten im Vergleich zu 43,5 % der RIC Patienten. Der Hauptvorteil klassischer Konditionierung besteht in der zuverlässigen Vorbeugung von Rezidiven, s. Kap. 5.9.3. So führt die klassische Konditionierung zwar zu höherer therapie-assoziiierter Mortalität, langfristig jedoch zu guten Überlebensraten.

Einfluss der verschiedenen GvHD-Prophylaxeregime auf aGVHD-Raten und Mortalität: In einer großen multizentrischen Studie an nicht verwandten Spendern und Empfängern nach STZ beschreiben Finke *et al.* eine signifikant erniedrigte aGVHD-Rate für Patienten, die randomisiert ATG zum regulären GvHD-Prophylaxeregime aus CSA und MTX zusätzlich erhalten hatten. Diese Reduktion betraf alle Schweregrade der GvHD: Grad II - IV war in 33 % statt in 51 % der Fälle aufgetreten und die Rate an schwerer GvHD III - IV betrug 11,7 % statt 24,5 % (Finke *et al.* 2009), s. Tab. 6.3.

In der vorliegenden Studie wurde ebenfalls eine deutliche Reduktion der aGVHD-

	Patienten	Inzidenz ohne ATG	Inzidenz unter ATG
Finke <i>et al.</i> , 2009	n = 202	GvHD II - IV 51 %	GvHD II - IV 33 %
		GvHD III - IV 24,5 %	GvHD III - IV 11,7 %
MPS-Studie, 2010	n = 46	GvHD II - IV 70 %	GvHD II - IV 40 %
		GvHD III - IV 30 %	GvHD III - IV 20 %

Tabelle 6.3: Studienvergleich: Zusammenhang zwischen ATG-Medikation und GvHD-Inzidenz

Inzidenz durch die Therapie mit ATG beobachtet. Diese betraf jedoch vor allem eine Reduktion des Grades II und ist vermutlich auch der dosisreduzierten Konditionierung an sich zuzuschreiben, in deren Rahmen die ATG-Medikation erfolgte. Im Bereich der schweren aGVHD Grad III - IV zeigte sich kein deutlicher Vorteil für die ATG-Gruppe. Da nur die schwere GvHD in dieser Studie prognostisch ungünstig war, haben die Patienten beider Prophylaxe-Gruppen eine ähnlich hohe Überlebenswahrscheinlichkeit. In der Finke-Studie konnten ebenfalls durch ATG keine Unterschiede bezüglich Überleben,

Rezidivhäufigkeiten und der Infektionshäufigkeit nachgewiesen werden, obwohl dort eine Reduktion aller GvHD-Schweregrade beobachtet wurde. ATG führt in der MPS-Studie nicht zu erhöhten Rezidivraten. Es hemmt trotz der *in vivo* T-Zell-Depletion den GvL-Effekt nicht und wird somit gerade für Patienten mit erhöhtem GvHD-Risiko auch im Rahmen klassischer Konditionierung als zusätzliche GvHD-Prophylaxe empfohlen. Finke *et al.* beschreiben eine reduzierte Rate extensiver cGvHD in der ATG-Gruppe (12 vs. 43 %), die wir nicht beobachtet haben (15 % in der MTX-Gruppe und 10 % in der ATG-Gruppe).

Ein starker **Einfluss der CD-34+ Zellmenge** auf die GvHD-Inzidenzen oder das Gesamtüberleben bestand in dieser Studie nicht, obwohl andere Studien einen signifikanten Überlebensvorteil für CD-34+ Mengen über 5×10^6 /kg KG belegen (Collins *et al.* 2010). Es stellte sich allerdings heraus, dass das Leukozyten-engraftment schneller eintrat, wenn die CD-34+ Menge oberhalb von 5×10^6 /kg KG lag. In der Gruppe mit der niedrigsten Zellmenge fand das Leukozytenengraftment im Mittel 5,5 Tage später statt als in den Gruppen mit höherer CD-34+ Zellmenge. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Pulsipher *et al.*; Sie stellten fest, dass ab einer Stammzellmenge von über $4,5 \times 10^6$ /kg KG sowohl die Geschwindigkeit als auch die Wahrscheinlichkeit eines engraftments von Leukozyten und Thrombozyten signifikant besser ist (Pulsipher *et al.* 2009). Für das Thrombozyten-engraftment zeigte sich in dieser Studie kein ähnlicher Vorteil. In der Studie von Collins *et al.* wurde ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen hoher CD-34+ Menge und dem Zeitpunkt des Thrombozyten-engraftments festgestellt. Von den zehn Patienten, die bis Tag +100 nach SZT keine stabile Thrombopoese aufwiesen, gehörten allerdings sieben der Gruppe mit der niedrigsten CD-34+ Menge an. Dies ist ein Hinweis der MPS-Studie auf einen Zusammenhang zwischen schnellem Thrombozyten-engraftment und höherer CD-34+ Menge im Transplantat.

Einfluss der CD-3+ Zellmenge auf aGVHD-Raten und Mortalität Da die Entwicklung einer GvHD hauptsächlich durch die Spender-T-Zellen (CD-3+ Zellen) verursacht wird, lag es nahe zu untersuchen, ob die Ausprägung von GvHD mit der Menge der übertragenen T-Zellen korreliert. Da T-Zellen den Trigger oder Auslöser

der GvHD darstellen, wäre eine positive Korellation zwischen T-Zellmenge und GvHD-Raten denkbar. Werden die CD-3+ Zellen vor der Transplantation aus dem Transplantat beinahe entfernt (sog. T-Zell-Depletion), wird tatsächlich eine GvHD fast sicher ausgeschlossen. Allerdings werden diese Vorteile mit höheren Rezidivraten und der erhöhten Wahrscheinlichkeit einer Transplantatabstoßung, also einem verminderten bzw. fehlenden GvL-Effekt erkauft (Ringden *et al.* 2009). Außerdem muss die Gesamtzahl der T-Zellen bei einer Depletion zur sicheren GvHD-Prophylaxe sehr stark reduziert werden, auf maximal 10^5 pro kg KG (Ho und Soiffer 2001). Es wäre denkbar, dass in Populationen ohne T-Zell-Depletion die GvHD-Raten abhängig von der transfundierten T-Zellmenge sind und die therapieassoziierte Mortalität mit den T-Zellmengen steigt. Bereits in den 80er Jahren wurde aber die These formuliert, dass oberhalb dieses Schwellenwertes von T-Zellen nur die HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger ausschlaggebend für die GvHD-Raten sind (Kernan *et al.* 1986). Studien belegen keinen linearen Zusammenhang zwischen CD-3+ Menge und GvHD-Inzidenz, sie zeigen im Gegenteil einen Vorteil für höhere CD-3+ Mengen auf, der sich in niedrigerer therapieassoziiierter Mortalität, besserem Leukämie-freiem Überleben und höherem Gesamtüberleben (Baron *et al.* 2005). Bei nonmyeloablativen Therapiekonzepten kommt es mit steigenden CD-3+ Mengen zu einem besseren Chimärismus (Dong *et al.* 2007). Diese Effekte beschreiben Dong *et al.* ab einem Cutoff-Wert von 177×10^6 /kg KG CD-3+ Zellen Empfänger von haploidentischen Transplantaten nach myeloablativer Konditionierung. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Menge transfundierter T-Zellen und der GvHD-Inzidenz oder Überlebenszeit wurde in der MPS-Studie nicht beobachtet.

CMV-Reaktivierung: In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass durch eine Therapie mit MMF die Wahrscheinlichkeit einer CMV-Reaktivierung nach einer Transplantation erhöht ist. Dies gilt sowohl für die Transplantation von soliden Organen (Moreso *et al.* 1998) als auch für die von hämatopoetischen Stammzellen. Für seropositive Patienten nach allogener SZT unter MMF-Therapie werden CMV-Reaktivierungsraten, also positive Antigenämien, von 75 %-90 % beobachtet (Kasper

et al. 2004, Hambach *et al.* 2002). Dagegen liegt die Antigenämie-Rate bei 35-41 %, wenn die GvHD-Prophylaxe kein MMF enthält (Bacigalupo *et al.* 1992).

In der vorliegenden Studie entwickelten lediglich 17/31 (54,8 %) der seropositiven Patienten eine CMV-Antigenämie. Einer davon entwickelte im Verlauf eine symptomatische CMV-Pneumonie, die tödlich verlief. Diese im Vergleich zu Hambach *et al.* niedrigere Inzidenz der CMV-Reaktivierung kann an der hier gewählten Dosierung von 1440 mg MPS pro Tag liegen, während bei Hambach *et al.* durchschnittlich mit 3g MMF täglich behandelt wurde, was einer MPS-Dosis von 2160 mg entsprechen würde (Budde *et al.* 2004). Es ist möglich, dass durch die niedrigere Dosis von MPS eine Reduktion der CMV-Reaktivierungsraten erreicht werden kann. Da die CMV-Antigenämie ein prognostisch schlechter Faktor für den langfristigen Verlauf ist, sollte der Zusammenhang zwischen MMF- bzw. EC-MPS-Dosis und der Wahrscheinlichkeit einer CMV-Reaktivierung näher untersucht werden. Bei Nash *et al.* konnte kein Zusammenhang zwischen MMF-Dosis und Reaktivierungsrate belegt werden. Hier lagen die Raten bei 46-57 % bei seropositiven Patienten (Nash *et al.* 2005) und waren somit vergleichbar hoch mit den hier vorliegenden Ergebnissen. Alle hier vorgestellten Studien kommen aber zu dem Schluss, dass MPS und MMF zu erhöhten CMV-Antigenämieraten führen.

Zusammenhang zwischen GvHD und CMV-Antigenämie: Die Korrelation zwischen akuter GvHD und der CMV-Reaktivierung nach SZT ist in der MPS-Studie mit $p = 0,03$ signifikant, sowohl für die Schweregrade II - IV als auch für die schwere Verlaufsform Grad III - IV. Das Outcome ist insgesamt schlechter bei Patienten mit CMV-Reaktivierung, denn Patienten ohne Antigenämie haben eine um ca. 1 Jahr höhere Überlebenserwartung als die Patienten mit Reaktivierung, und diese Differenz zeigt mit $p = 0,06$ einen deutlichen Trend, s. Abb. 5.15. Eine mögliche Erklärung dieser Korrelation besteht in der Modifikation des Immunsystems durch CMV. Manche Studien belegen diesen Zusammenhang zwischen CMV-Antigenämie bzw. Infektion mit akuter GvHD (Miller *et al.* 1986), andere stellen einen solchen Effekt nicht fest (Wang *et al.* 2008). Es ist demnach für die Patienten dieser Studie prognostisch sehr bedeutsam, ob sie eine CMV-Antigenämie entwickeln oder nicht. Die frühe preemptive Therapie mit

Ganciclovir verhindert zwar meist eine manifeste CMV-Infektion und verbessert somit das Outcome der Patienten mit Antigenämie massiv, kann es aber nicht demjenigen der Patienten ohne Antigenämie angleichen (Ljungman *et al.* 2008). Deshalb ist weiterhin die Prävention der CMV-Antigenämie wichtig, die durch die richtige Auswahl der Transplantate und eine angemessene GvHD-Prophylaxe gewährleistet wird.

6.3 Perspektiven

Die graft-versus-host disease bleibt das zentrale Problem in der Behandlung von Patienten mit allogener Stammzelltransplantation. Gerade das hohe Risiko einer GvHD muss durch eine ausgewogene Immunsuppression kontrolliert werden, die den GvL-Effekt möglichst erhält und gleichzeitig die GvHD-Symptome beherrschen kann. In der vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass die dreifache Immunsuppression mit CSA, ATG und EC-MPS oder CSA, EC-MPS und MTX eine verträgliche und sichere GvHD-Prophylaxe gewährleistet. Allerdings konnte im Vergleich zu anderen Studien mit zweifacher Immunsuppression keine deutliche Reduktion der GvHD-Raten oder Schweregrade erzielt werden. Um die zweifache mit der dreifachen Immunsuppression vergleichen zu können, wäre eine prospektive Studie wünschenswert, bei der eine Gruppe eine zweifache Immunsuppression erhält und die andere zusätzlich mit MMF oder MPS behandelt wird. Dieser Vergleich wäre insbesondere unter Berücksichtigung des Nebenwirkungsprofils der einzelnen Medikamente sinnvoll.

Außerdem gibt es wahrscheinlich große Schwankungen des Wirkstoffspiegels im Blut von SZT-Patienten, weil der Gastrointestinaltrakt durch die Konditionierung und GvHD-Schäden beeinträchtigt wird. Zukünftige Studien sollten daher regelmäßige Spiegelkontrollen beinhalten. Ebenso wären einheitliche Kriterien für das Absetzen einzelner Komponenten der Immunsuppression wünschenswert.

Interessant wäre auch eine vergleichende Studie zwischen einer GvHD-Prophylaxe mit MMF oder MPS und der therapeutischen Gabe bei Bedarf bei manifester GvHD. Um

die Effektivität der dreifachen GvHD-Prophylaxe näher zu untersuchen, könnte man für die Patienten der MPS-Studie eine retrospektive „matched pair“-Analyse durchführen und die GvHD-Inzidenz und das Überleben beider Gruppen vergleichen. Darüber hinaus wäre es wünschenswert die beiden oral applizierbaren Medikamente EC-MPS und MMF prospektiv im Rahmen der Stammzelltransplantation miteinander zu vergleichen. Nur so kann eine verlässliche Aussage über das Nebenwirkungsprofil beider Darreichungsformen gemacht werden.

Ein weiterer interessanter Aspekt, der noch gesondert untersucht werden könnte, ist der Zusammenhang zwischen chronischer cGvHD nach SZT unter MPS- oder MMF-Therapie und die Frage, ob sich eine Senkung der cGvHD-Raten insgesamt positiv auf das Gesamtüberleben oder im Gegenteil nachteilig auf das Outcome der Patienten auswirkt. Genauso erstrebenswert wäre eine prospektive Studie über die Inzidenz von CMV-Reaktivierung und -Infektionen in Abhängigkeit von der MMF- oder MPS-Gabe. Hier sollte der GvHD-protective Effekt von MPS gegen das Risiko einer CMV-Antigenämie abgewogen werden.

7 Schlussfolgerungen

Insgesamt wurde in der vorliegenden MPS-Studie eine gute Verträglichkeit der dreifachen GvHD Prophylaxe bestehend aus CSA, MTX und MPS oder CSA, ATG und MPS ermittelt, da sich ein überschaubares Nebenwirkungsprofil dieser Prophylaxe zeigte. Eine deutliche Reduktion der akuten und chronischen GvHD Inzidenz wurde jedoch im Vergleich zu zweifacher medikamentöser GvHD Prophylaxe nicht erreicht, das Gesamtüberleben dieser Studie kann als zufriedenstellend bewertet werden. Die Schlussfolgerungen dieser Studie sind hier zusammengefasst:

- Durchschnittlich erhielten die Patienten die volle Dosis EC-MPS über einen Zeitraum von 38 Tagen, abgesetzt wurde es im Mittel nach 68,5 Tagen. 65 % der Patienten erhielten diese Medikation durchgehend oral, 28 % wurden vorübergehend und 7 % ausschließlich mit intravenöser Mykophenolsäure behandelt.
- Als Nebenwirkungen traten in 9 % der Fälle Übelkeit bzw. Erbrechen auf. Wegen fraglicher neurotoxischer Nebenwirkungen wurde MPS bei zwei Patienten (4 %) abgesetzt, einer dieser Fälle wird rückblickend auf eine Leukenzephalopathie zurück geführt.
- Das engraftment für Leuko- und Thrombozyten war etwas verzögert. Dieser Umstand scheint jedoch nicht durch MPS verursacht worden zu sein.
- Die Rate akuter GvHD Grad II - IV lag insgesamt bei 53,3 %, 22,2 % der Patienten waren von Schweregrad III - IV betroffen. Es wurde somit im Vergleich zur zweifachen GvHD-Prophylaxe keine deutliche Reduktion der GvHD-Raten erreicht.

- Die geschätzte mittlere Überlebensdauer nach Kaplan-Meier Analyse betrug bei einem Beobachtungszeitraum von 32 Monaten $28,6 \pm 3,3$ Monate und die Gesamtmortalität betrug 50 %. Das rezidivfreie Gesamtüberleben belief sich auf $24,4 \pm 3,3$ Monate, die Rate der rezidivfrei überlebenden Patienten lag bei 41,3 %. Diese Raten sind etwas höher als in vergleichbaren Studien. Die Rezidivrate betrug 19,5 %. Bei 22 % der Patienten bestand zum Zeitpunkt des Todes eine akute oder chronische GvHD, weitere Todesursachen waren eine Infektion, ein Zweitumor und ein Transplantatversagen. Die therapieassoziierte Mortalität betrug insgesamt 24 %.
- Die Patienten mit GvHD Grad 0 - II hatten ein statistisch signifikant bessere Überlebenswahrscheinlichkeit als die mit Grad III - IV.
- 25/39 (64 %) der Patienten entwickelten eine chronische GvHD, davon war der Verlauf bei 20 Patienten (51 %) limitiert und bei 5 Patienten (13 %) extensiv. Es gab keinen Zusammenhang zwischen Schweregrad der chronischen GvHD und der Mortalität.

Weitere Fragestellungen: Die **HLA Kompatibilität** hatte unter MPS Medikation keinen statistisch signifikanten Einfluss auf GvHD Raten und das Überleben. **Alter:** Die Patienten bis 47 Jahre entwickelten signifikant häufiger eine GvHD Grad II - IV, für die Schweregrade III - IV und das Überleben stellte sich kein deutlicher Unterschied dar. Die Patienten entwickelten nach klassischer **Konditionierung** tendenziell häufiger eine akute GvHD, das Gesamtüberleben war in dieser Gruppe etwas besser als in der RIC-Gruppe. Die Patienten mit ATG-basierter **GvHD-Prophylaxe** zeigten tendenziell niedrigere GvHD-Raten im Vergleich zur MTX-Gruppe für die Schweregrade II - IV. Für die Schweregrade III - IV und für das Überleben wurde dieser Unterschied und das nicht beobachtet. **Geschlecht:** Ein Trend zu höheren Raten GvHD Grad III - IV sahen wir bei Empfängern weiblicher Transplantate. Nach m/m SZT lebten Patienten deutlich länger als bei m/f Konstellation. Dieses bekannte Phänomen konnte durch MPS nicht verbessert werden. **Zusammensetzung der Transplantate:** Die Menge an CD-34+ und CD-3+ Zellen zeigte keinen Einfluss auf die GvHD - Inzidenzen und das

Überleben, jedoch bewirkten höhere CD-34+ Mengen ein schnelleres engraftment. Die Rate an **CMV-Antigenämie** wird durch MPS wahrscheinlich leicht erhöht. Die CMV-Antigenämie ist mit signifikant höheren GvHD-Raten sowohl für die Schweregrade II - IV als auch III - IV verbunden. Das Überleben der Patienten ohne CMV Antigenämie ist beinahe signifikant besser als das der übrigen Patienten.

Literaturverzeichnis

- Allison AC. 2005. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil. *Lupus*, 14:S2–S8.
- Allison AC, Almquist SJ, Muller CD, Eugui EM. 1991. Invitro Immunosuppressive Effects Of Mycophenolic-Acid And An Ester Pro-Drug, Rs-61443.
- Anasetti C. 2008. What are the most important donor and recipient factors affecting the outcome of related and unrelated allogeneic transplantation? *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 21(4):691–697.
- Bacigalupo A, Tedone E, Sanna MA, Moro F, Vanlit MT, Grazi G, Balestreri M, Frasoni F, Occhini D, Gualandi F, Lamparelli T, Jie T, Figari O, Piaggio G, Marmont AM. 1992. Cmv Infections Following Allogeneic Bmt - Risk-Factors, Early Treatment And Correlation With Transplant Related Mortality. *Haematologica*, 77(6):507–513.
- Balduzzi A, Gooley T, Anasetti C, Sanders JE, Martin PJ, Petersdorf EW, Appelbaum FR, Buckner CD, Matthews D, Storb R, Sullivan KM, Hansen JA. 1995. Unrelated Donor Marrow Transplantation In Children. *Blood*, 86(8):3247–3256.
- Baron F, Maris MB, Storer BE, Sandmaier BM, Panse JP, Chauncey TR, Sorrow M, Little MT, Maloney DG, Storb R, Heimfeld S. 2005. High doses of transplanted CD34(+) cells are associated with rapid T-cell engraftment and lessened risk of graft rejection, but not more graft-versus-host disease after nonmyeloablative conditioning and unrelated hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*, 19(5):822–828.
- Basara N, Blau WI, Kiehl MG, Schmetzer B, Bischoff M, Kirsten D, Gunzelmann S,

- Fauser AA. 2000. Mycophenolate mofetil for the prophylaxis of acute GVHD in HLA-mismatched bone marrow transplant patients. *Clinical Transplantation*, 14(2):121–126.
- Behrend M. 2001. Adverse gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil - Aetiology, incidence and management. *Drug Safety*, 24(9):645–663.
- Bensinger WI, Buckner CD, ShannonDorcy K, Rowley S, Appelbaum FR, Benyunes M, Clift R, Martin P, Demirer T, Storb R, Lee M, Schiller G. 1996. Transplantation of allogeneic CD34(+) peripheral blood stem cells in patients with advanced hematologic malignancy. *Blood*, 88(11):4132–4138.
- Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, Kashyap A, Flowers MED, Lilleby K, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR, Rowley S, Heimfeld S, Blume K. 2001. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *New England Journal Of Medicine*, 344(3):175–181.
- Bornhäuser M, Schuler U, Porksen G, Naumann R, Geissler G, Thiede C, Schwerdtfeger R, Ehninger G, Thiede HM. 1999. Mycophenolate mofetil and cyclosporine as graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic blood stem cell transplantation. *Transplantation*, 67(4):499–504.
- Budde K, Glander P, Diekmann F, Dragun D, Waiser J, Fritsche L, Neumayer HH. 2004. Enteric-coated mycophenolate sodium: Safe conversion from mycophenolate mofetil in maintenance renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings*, 36(2):524S–527S.
- Budde K, Glander P, Kramer BK, Fischer W, Hoffmann U, Bauer S, Grohmann J, Neumayer HH, Arns W. 2007. Conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in maintenance renal transplant recipients receiving tacrolimus: Clinical, pharmacokinetic, and pharmacodynamic outcomes. *Transplantation*, 83(4):417–424.
- Bunn D, Lea CK, Bevan DJ, Higgins RM, Hendry BM. 1996. The pharmacokinetics

- of anti-thymocyte globulin (ATG) following intravenous infusion in man. *Clinical Nephrology*, 45(1):29–32.
- Carr SF, Papp E, Wu JC, Natsumeda Y. 1993. Characterization Of Human Type-I And Type-Ii Imp Dehydrogenases. *Journal Of Biological Chemistry*, 268(36):27286–27290.
- Collins NH, Gee AP, Durett AG, Kan FY, Zhang MJ, Champlin RE, Confer D, Eapen M, Howard A, King R, Laughlin MJ, Plante RJ, Setterholm M, Spellman S, Keever-Taylor C, Wagner JE, Weisdorf DJ. 2010. The Effect of the Composition of Unrelated Donor Bone Marrow and Peripheral Blood Progenitor Cell Grafts on Transplantation Outcomes. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 16(2):253–262.
- Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, Theobald M, Jacky E, Daenen SMG, Kooy MV, Wijermans P, Schouten H, Huijgens PC, van der Lelie H, Fey M, Ferrant A, Maertens J, Gratwohl A, Lowenberg B. 2007. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood*, 109(9):3658–3666.
- Couriel DR, Saliba RM, Giralt S, Khouri I, Andersson B, de Lima M, Hosing C, Anderlini P, Donato M, Cleary K, Gajewski J, Neumann J, Ippoliti C, Rondon G, Cohen A, Champlin R. 2004. Acute and chronic Graft-versus-Host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 10(3):178–185.
- Crocchiolo R, Ciceri F, Fleischhauer K, Oneto R, Bruno B, Pollichieni S, Sacchi N, Sormani MP, Fanin R, Bandini G, Bonifazi F, Bosi A, Rambaldi A, Alessandrino PE, Falda M, Bacigalupo A. 2009. HLA matching affects clinical outcome of adult patients undergoing haematopoietic SCT from unrelated donors: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo and Italian Bone Marrow Donor Registry. *Bone Marrow Transplantation*, 44(9):571–577.

- Das R, Komorowski R, Hessner MJ, Subramanian H, Huettner CS, Cua D, Drobyski WR. 2010. Blockade of interleukin-23 signaling results in targeted protection of the colon and allows for separation of graft-versus-host and graft-versus-leukemia responses. *Blood*, 115(25):5249–5258.
- Deeg HJ, Ferrara JLM. 1991. Graft-Versus-Host Disease - Reply. *New England Journal Of Medicine*, 325(5):358–358.
- Dong LJ, Wu T, Zhang MJ, Gao ZY, Lu DP. 2007. CD3(+) cell dose and disease status are important factors determining clinical undergoing unmanipulated outcomes in patients haploidentical blood and including marrow transplantation after conditioning antithymocyte globulin. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 13(12):1515–1524.
- Draper HM. 2008. Depressive disorder associated with mycophenolate mofetil. *Pharmacotherapy*, 28(1):136–139.
- Finke J, Bethge WA, Schmoor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, Volin L, Ruutu T, Heim DA, Schwerdtfeger R, Kolbe K, Mayer J, Maertens JA, Linkesch W, Holler E, Koza V, Bornhauser M, Einsele H, Kolb HJ, Bertz H, Egger M, Grishina O, Socie G. 2009. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncology*, 10(9):855–864.
- French LE, Tschopp J. 1999. Inhibition of death receptor signaling by FLICE-inhibitory protein as a mechanism for immune escape of tumors. *Journal Of Experimental Medicine*, 190(7):891–893.
- Fulton B, Markham A. 1996. Mycophenolate mofetil - A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in renal transplantation. *Drugs*, 51(2):278–298.
- Giaccone L, McCune JS, Maris MB, Gooley TA, Sandmaier BM, Slattery JT, Cole S, Nash RA, Storb RF, Georges GE. 2005. Pharmacodynamics of mycophenolate

- mofetil after nonmyeloablative conditioning and unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 106(13):4381–4388.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner C, Neiman P, Clift R, Lerner K, Thomas E. 1974. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation*, 18:295–304.
- Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. 2001. Acute graft-vs-host disease: Pathobiology and management. *Experimental Hematology*, 29(3):259–277.
- Gratwohl A, Baldomero H, Horisberger B, Schmid C, Passweg J, Urbano-Ispizua A. 2002. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood*, 100(7):2374–2386.
- Grigg AP, Szer J, Beresford J, Dodds A, Bradstock K, Durrant S, Schwarzer AP, Hughes T, Herrmann R, Gibson J, Arthur C, Matthews J. 1999. Factors affecting the outcome of allogeneic bone marrow transplantation for adult patients with refractory or relapsed acute leukaemia. *British Journal Of Haematology*, 107(2):409–418.
- Haentzschel I, Freiberg-Richter J, Platzbecker U, Kiani A, Schetelig J, Illmer T, Ehninger G, Schleyer E, Bornhauser M. 2008. Targeting mycophenolate mofetil for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 42(2):113–120.
- Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, Groth C, Hooftman L, Barker C. 1997. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients - A pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. *Transplantation*, 63(1):39–47.
- Hambach L, Stadler M, Dammann E, Ganser A, Hertenstein B. 2002. Increased risk of complicated CMV infection with the use of mycophenolate mofetil in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 29(11):903–906.
- Hansen JA, Gooley TA, Martin PJ, Appelbaum F, Chauncey TR, Clift RA, Petersdorf EW, Radich J, Sanders JE, Storb RF, Sullivan KM, Anasetti C. 1998. Bone marrow transplants from unrelated donors for patients with chronic myeloid leukemia.

- New England Journal Of Medicine, 338(14):962–968.
- Hardinger KL, Hebbbar S, Bloomer T, Murillo D. 2008. Adverse drug reaction driven immunosuppressive drug manipulations: a single-center comparison of enteric-coated mycophenolate sodium vs. mycophenolate mofetil. *Clinical Transplantation*, 22(5):555–561.
- Hill GR, Ferrara JLM. 2000. The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 95(9):2754–2759.
- Ho VT, Soiffer RJ. 2001. The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 98(12):3192–3204.
- Hsieh MH, Patterson AE, Korngold R. 2000. T-cell subsets mediate graft-versus-myeloid leukemia responses via different cytotoxic mechanisms. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 6(3):231–240.
- Hutchinson P, Jose M, Atkins RC, Holdsworth SR. 2004. Ex vivo lymphocyte proliferative function is severely inhibited in renal transplant patients on mycophenolate mofetil treatment. *Transplant Immunology*, 13(1):55–61.
- Iqbal N, Salzman D, Lazenby AJ, Wilcox CM. 2000. Diagnosis of gastrointestinal graft-versus-host disease. *American Journal Of Gastroenterology*, 95(11):3034–3038.
- Jacobsohn DA, Vogelsang GB. 2007. Acute graft versus host disease. *Orphanet Journal Of Rare Diseases*, 2:35.
- Jain AB, Hamad I, Rakela J, Dodson F, Kramer D, Demetris J, McMichael J, Starzl TE, Fung JJ. 1998. A prospective randomized trial of tacrolimus and prednisone versus tacrolimus, prednisone, and mycophenolate mofetil in primary adult liver transplant recipients - An interim report. *Transplantation*, 66(10):1395–1398.
- Kanda J, Chao NJ, Rizzieri DA. 2010. Haploidentical transplantation for leukemia. *Curr Oncol Rep*, 12(5):292–301.
- Kasper C, Sayer HG, Mugge LO, Schilling K, Scholl S, Issa MC, Hoffken K. 2004.

- Combined standard graft-versus-host disease (GvHD) prophylaxis with mycophenolate mofetil (MMF) in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from unrelated donors. *Bone Marrow Transplantation*, 33(1):65–69.
- Kataoka I, Kami M, Takahashi S, Kodera Y, Miyawaki S, Hirabayashi N, Okamoto S, Matsumoto N, Miyazaki Y, Morishita Y, Asai O, Maruta A, Yoshida T, Imamura M, Hamajima N, Matsuo K, Harada M, Mineishi S. 2004. Clinical impact of graft-versus-host disease against leukemias not in remission at the time of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from related donors. The Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Working Party. *Bone Marrow Transplantation*, 34(8):711–719.
- Kataoka Y, Iwasaki T, Kuroiwa T, Seto Y, Iwata N, Hashimoto N, Ogata A, Hamano T, Kakishita E. 2001. The role of donor T cells for target organ injuries in acute and chronic graft-versus-host disease. *Immunology*, 103(3):310–318.
- Kernan NA, Collins NH, Juliano L, Cartagena T, Dupont B, Oreilly RJ. 1986. Clonable Lymphocytes-T In T-Cell-Depleted Bone-Marrow Transplants Correlate With Development Of Graft-V-Host Disease. *Blood*, 68(3):770–773.
- Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, Mentzer R, Alderman E, Bourge R, Costanzo M, Eisen H, Dureau G, Ratkovec R, Hummel M, Ipe D, Johnson J, Keogh A, Mamelok R, Mancini D, Smart F, Valantine H. 1998. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. *Transplantation*, 66(4):507–515.
- Lazarus HM, Coccia PF, Herzig RH, Grahampole J, Gross S, Strandjord S, Gordon E, Cheung NKV, Warkentin PI, Spitzer TR, Warm SE. 1984. Incidence Of Acute Graft-Versus-Host Disease With And Without Methotrexate Prophylaxis In Allogeneic Bone-Marrow Transplant Patients. *Blood*, 64(1):215–220.
- Lin Q, Dong M, Wang QM, Wen JY, Wu XY. 2006. [Influence of graft-versus-host disease on long-term survival of 26 patients with hematologic malignancies after transplantation]. *Ai Zheng*, 25(10):1261–5.

- Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, Einsele H, Engelhard D, Reusser P, Styczynski J, Ward K. 2008. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 42(4):227–240.
- Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H, Gratwohl A, Madrigal A, Niederwieser D, Passweg J, Rocha V, Saccardi R, Schouten H, Schmitz N, Socie G, Sureda A, Apperley J. 2006. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplantation*, 37(5):439–449.
- Loren AW, Porter DL. 2008. Donor leukocyte infusions for the treatment of relapsed acute leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 41(5):483–493.
- Maris MB, Niederwieser D, Sandmaier BM, Storer B, Stuart M, Maloney D, Petersdorf E, McSweeney P, Pulsipher M, Woolfrey A, Chauncey T, Agura E, Heimfeld S, Slattery J, Hegenbart U, Anasetti C, Blume K, Storb R. 2003. HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with hematologic malignancies. *Blood*, 102(6):2021–2030.
- Martin PJ. 1991. Increased Disparity For Minor Histocompatibility Antigens As A Potential Cause Of Increased Gvhd Risk In Marrow Transplantation From Unrelated Donors Compared With Related Donors. *Bone Marrow Transplantation*, 8(3):217–223.
- Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Applebaum FR, Beatty PG, Doney K, McDonalds GB, Sanders JE, Sullivan KM, Storb R, Thomas ED, Witherpoon RP, Lomen P, Hannigan J, Hansen JA. 1990. A Retrospective Analysis Of Therapy For Acute Graft-Versus-Host Disease - Initial Treatment. *Blood*, 76(8):1464–1472.
- Matzinger P. 2002. The danger model: A renewed sense of self. *Science*, 296(5566):301–

305.

- McDonald GB, Shulman HM, Sullivan KM, Spencer GD. 1986. Intestinal And Hepatic Complications Of Human-Bone Marrow Transplantation .1. Gastroenterology, 90(2):460–477.
- McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, Maloney DG, Chauncey TR, Gooley TA, Hegenbart U, Nash RA, Radich J, Wagner JL, Minor S, Appelbaum FR, Bensinger WI, Bryant E, Flowers MED, Georges GE, Grumet FC, Kiem HP, Torok-Storb B, Yu G, Blume KG, Storb RF. 2001. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. Blood, 97(11):3390–3400.
- Miller W, Flynn P, McCullough J, Balfour HH, Goldman A, Haake R, McGlave P, Ramsay N, Kersey J. 1986. Cytomegalovirus-Infection After Bone-Marrow Transplantation - An Association With Acute Graft-V-Host Disease. Blood, 67(4):1162–1167.
- Mohty M. 2007. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. Leukemia, 21(7):1387–1394.
- Moreso F, Seron D, Morales JM, Cruzado JM, Gil-Vernet S, Perez JL, Fulladosa X, Andres A, Grinyo JM. 1998. Incidence of leukopenia and cytomegalovirus disease in kidney transplants treated with mycophenolate mofetil combined with low cyclosporine and steroid doses. Clinical Transplantation, 12(3):198–205.
- Munker R, Reibke R, Kolb HJ. 2006. Graft-versus-host and graft-versus-leukemia reactions: a summary of the Seventh International Symposium held in Garmisch-Partenkirchen, Germany, February 22nd-25th, 2006, Tolerance and Immunity, an update on lymphoid malignancies. Bone Marrow Transplant, 38(9):593–607.
- Nash RA, Johnston L, Parker P, McCune PS, Storer B, Slattery JT, Furlong T, Anasetti C, Appelbaum FR, Lloid ME, Deeg HJ, Kiem HP, Martin PJ, Schubert MM, Witherspoon RP, Forman SJ, Blume KG, Storb R. 2005. A phase I/II study of mycophenolate mofetil in combination with cyclosporine for prophylaxis of acute

- graft-versus-host disease after myeloablative conditioning and allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 11(7):495–505.
- Nowak J. 2008. Role of HLA in hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 42:S71–S76.
- Ostronoff F, Ostronoff M, Souto-Maior AP, Domingues M, Sucupira A, Manso DA, de Lima AK, Monteiro PG, Florencio R, Calixto R. 2009. Prospective trial of mycophenolate mofetil-cyclosporine A prophylaxis for acute GVHD after G-CSF stimulated allogeneic bone marrow transplantation with HLA-identical sibling donors in patients with severe aplastic anemia and hematological malignancies. *Clinical Transplantation*, 23(1):33–38.
- Paris F, Fuks Z, Kang A, Capodieci P, Juan G, Ehleiter D, Haimovitz-Friedman A, Cordon-Cardo C, Kolesnick R. 2001. Endothelial apoptosis as the primary lesion initiating intestinal radiation damage in mice. *Science*, 293(5528):293–297.
- Perez-Simon JA, Martino R, Caballero D, Valcarcel D, Rebollo N, de la Camara R, de Oteiza JP, Heras I, Calvo MV, Sierra J, Miguel JFS. 2008. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation from unrelated donors: Evaluation of mycophenolate mofetil plus cyclosporin a as graft-versus-host disease prophylaxis. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, 14(6):664–671.
- Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, Thomas ED. 1995. Consensus Conference On Acute Gvhd Grading. *Bone Marrow Transplantation*, 15(6):825–828.
- Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Logan BR, Leitman SF, Anderlini P, Klein JP, Horowitz MM, Miller JP, King RJ, Confer DL. 2009. Donor, recipient, and transplant characteristics as risk factors after unrelated donor PBSC transplantation: beneficial effects of higher CD34(+) cell dose. *Blood*, 114(13):2606–2616.
- Ringden O, Karlsson H, Olsson R, Omazic B, Uhlin M. 2009. The allogeneic graft-versus-cancer effect. *Br J Haematol*, 147(5):614–33.

- Ringden O, Klaesson S, Sundberg B, Ljungman P, Lonnqvist B, Persson U. 1992. Decreased Incidence Of Graft-Versus-Host Disease And Improved Survival With Methotrexate Combined With Cyclosporine Compared With Monotherapy In Recipients Of Bone-Marrow From Donors Other Than Hla Identical Siblings. *Bone Marrow Transplantation*, 9(1):19–25.
- Ringden O, Sundberg B, Lonnqvist B, Tollemar J, Gahrton G, Nilsson B. 1988. Allogeneic Bone-Marrow Transplantation For Leukemia - Factors Of Importance For Long-Term Survival And Relapse. *Bone Marrow Transplantation*, 3(4):281–290.
- Ross WA, Couriel D. 2005. Colonic graft-versus-host disease. *Current Opinion In Gastroenterology*, 21(1):64–69.
- Salvadori M, Holzer H, de Mattos A, Sollinger H, Arns W, Oppenheimer F, Maca J, Hall M. 2004. Enteric-coated mycophenolate sodium is therapeutically equivalent to mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. *American Journal Of Transplantation*, 4(2):231–236.
- Schleuning M, Judith D, Jedlickova Z, Stubig T, Heshmat M, Baurmann H, Schwerdtfeger R. 2009. Calcineurin inhibitor-free GVHD prophylaxis with sirolimus, mycophenolate mofetil and ATG in Allo-SCT for leukemia patients with high relapse risk: an observational cohort study. *Bone Marrow Transplantation*, 43(9):717–723.
- Schmitz N, Beksac M, Hasenclever D, Bacigalupo A, Ruutu T, Nagler A, Gluckman E, Russell N, Apperley JF, Gorin NC, Szer J, Bradstock K, Buzyn A, Clark P, Borkett K, Gratwohl A. 2002. Transplantation of mobilized peripheral blood cells to HLA-identical siblings with standard-risk leukemia. *Blood*, 100(3):761–767.
- Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, Hackman R, Tsoi M, Storb R, Thomas ED. 1980. Chronic Graft Versus Host Syndrome In Man - A Long-Term Clinicopathologic Study Of 20 Seattle Patients. *American Journal Of Medicine*, 69(2):204–217.
- Sievers TM, Rossi SJ, Ghobrial RM, Arriola E, Nishimura P, Kawano M, Holt CD. 1997. Mycophenolate mofetil. *Pharmacotherapy*, 17(6):1178–1197.

- Sollinger HW. 2004. Mycophenolates in transplantation. *Clinical Transplantation*, 18(5):485–492.
- Suciu S, Zittoun R, Mandelli F, de Witte T, Gallo E, Belhabri A, Labar B, Rotoli B, Cacciola E, Varet B, Liso V, Ferrara F, Jehn U, Mirto S, Bourhis JH, Amadori S, Fazi P, Rodts P, Hagemeijer A, Willemze R. 2001. Allogeneic vs autologous stem cell transplantation according to cytogenetic features in AML patients (pts) \leq 45 yrs old in first CR: Results of the EORTC-GIMEMA AML-10 trial. *Blood*, 98(11):2010.
- Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R, Deeg HJ, Dahlberg S, Sanders JE, Appelbaum FR, Doney KC, Weiden P, Anasetti C, Loughran TP, Hill R, Shields A, Yee G, Shulman H, Nims J, Strom S, Thomas ED. 1988. Alternating-Day Cyclosporine And Prednisone For Treatment Of High-Risk Chronic Graft-V-Host Disease. *Blood*, 72(2):555–561.
- Sykes M. 1990. Unusual T-Cell Populations In Adult Murine Bone-Marrow - Prevalence Of Cd3+Cd4-Cd8- And Alpha-Beta-Tcr+Nk1.1+ Cells. *Journal Of Immunology*, 145(10):3209–3215.
- Teshima T, Ferrara JLM. 2002. Understanding the alloresponse: New approaches to graft-versus-host disease prevention. *Seminars In Hematology*, 39(1):15–22.
- Thiebaut A, Vernant JP, Degos L, Huguet FR, Reiffers J, Sebban C, Lepage E, Thomas X, Fiere D. 2000. Adult acute lymphocytic leukemia study testing chemotherapy and autologous and allogeneic transplantation - A follow-up report of the French protocol LALA 87. *Hematology-Oncology Clinics Of North America*, 14(6):1353–+.
- Thomson AW. 1990. Fk-506 Enters The Clinic. *Immunology Today*, 11(2):35–36.
- Van Glabbeke M, Verweij J, Casali PG, Simes J, Le Cesne A, Reichardt P, Issels R, Judson IR, van Oosterom AT, Blay JY. 2006. Predicting toxicities for patients with advanced gastrointestinal stromal tumours treated with imatinib: A study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer, the Italian

- Sarcoma Group, and the Australasian Gastro-Intestinal Trials Group (EORTC-ISG-AGITG). *European Journal Of Cancer*, 42(14):2277–2285.
- Vogelsang GB, Arai S. 2001. Mycophenolate mofetil for the prevention and treatment of graft-versus-host disease following stem cell transplantation: preliminary findings. *Bone Marrow Transplantation*, 27(12):1255–1262.
- Vogelsang GB, Lee L, Bensen-Kennedy DM. 2003. Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant. *Annual Review Of Medicine-Selected Topics In The Clinical Sciences*, 54:29–52.
- Wang LR, Dong LJ, Zhang MJ, Lu DP. 2008. Correlations of human herpesvirus 6B and CMV infection with acute GVHD in recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 42(10):673–677.
- Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, Storb R. 1979. Anti-Leukemic Effect Of Graft Versus Host Disease In Human Recipients Of Allogeneic Marrow Grafts. *New England Journal Of Medicine*, 300(19):1068–1073.
- Weinberg K, Annett G, Kashyap A, Lenarsky C, Forman SJ, Parkman R. 1995. The effect of thymic function on immunocompetence following bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 1(1):18–23.
- Xun CQ, Thompson JS, Jennings CD, Brown SA, Widmer MB. 1994. Effect Of Total-Body Irradiation, Busulfan-Cyclophosphamide, Or Cyclophosphamide Conditioning On Inflammatory Cytokine Release And Development Of Acute And Chronic Graft-Versus-Host Disease In H-2-Incompatible Transplanted Scid Mice. *Blood*, 83(8):2360–2367.
- Yu C, Seidel K, Nash RA, Deeg HJ, Sandmaier BM, Barsoukov A, Santos E, Storb R. 1998. Synergism between mycophenolate mofetil and cyclosporine in preventing graft-versus-host disease among lethally irradiated dogs given DLA-nonidentical unrelated marrow grafts.
- Zeng DF, Lewis D, Dejbakhsh-Jones S, Lan FS, Garcia-Ojeda M, Sibley R, Strober S.

-
1999. Bone marrow NK1.1(-) and NK1.1(+) T cells reciprocally regulate acute graft versus host disease. *Journal Of Experimental Medicine*, 189(7):1073–1081.

Anhang

Veröffentlichungen

Kongressbeitrag:

Prospektive, monozentrische Studie mit magensaftresistenter („enteric-coated“) Mycophenolsäure (EC-MPS) [Myfortic®] als Zusatz zur standardisierten GvHD-Prophylaxe nach allogener Stammzelltransplantation mit voll- oder teilkompatiblen Fremdspendern [Posterbeitrag auf dem EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) Kongress 2008, Bone Marrow Transplantation (2008), 41]

Autoren: H.G. Sayer, **D. Garitz**, A. Klink, L. O. Mügge, S. Scholl, K. Schilling, K. Höfken Universitätsklinikum Jena, Klinik für Innere Medizin II (Onkologie/Hämatologie), Jena, Deutschland

Lebenslauf

Name:	Dominica Rathje, geb. Garitz
Geburtsdatum	1.8.1985
Geburtsort	Berlin
Grundschule:	1991-1995; Grundschule Schelfschule, Schwerin
Gymnasium:	- 1995-1997; Gymnasium Fridericianum, Schwerin - 1997-2004 Gymnasium Atheneum, Stade
Schulabschluss:	Abitur im Juni 2004
Studium:	Studium der Humanmedizin an der FSU Jena Oktober 2004 bis April 2012
Erstes Staatsexamen:	September 2006
Zweites Staatsexamen:	April 2012
Famulaturen:	- FSU Jena, Klinik für Frauenheilkunde - FSU Jena, Klinik für Innere Medizin II, auf der Station für Hämatologie und Onkologie und auf der Station für Kno- chenmarkstransplantation - Praxis für Allgemeinmedizin Garitz/Euringer - Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Klinik für Neu- rologie
Hilfswillenschaftliche Tä- tigkeit	2007-2009; Institut für mikroskopische Anatomie der FSU Jena
Abschluss des zehnten Se- mesters	Oktober 2009
Elternzeit	Dezember 2009- November2010
Praktisches Jahr	Dezember 2010 bis Dezember2011 an der FSU Jena -Unfallchirurgie und Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie -Internistische Endokrinologie -Gynäkologie und Geburtshilfe
Zweites Staatsexamen	April 2012

Danksagung

Für meine Doktorarbeit schulde ich sehr vielen Menschen einen herzlichen Dank. Besonders möchte ich mich bei meinem Doktorvater PD Dr. Herbert G. Sayer bedanken, der mir viel Geduld entgegen brachte und mit wertvollen Ratschlägen für das Gelingen dieser Arbeit sorgte. Ein Dank für die Unterstützung beim Zusammentragen der Patientendaten geht an Frau Anja Markusch. Ebenso möchte ich mich beim Team der „Mildred-Scheel-Station für Knochenmarkstransplantation“ für die freundliche Betreuung während meiner Famulatur bedanken. Bei den Patienten, die durch ihr Mitwirken die MPS-Studie ermöglicht haben, bedanke ich mich ganz besonders.

Desweiteren möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich in finanzieller und persönlicher Hinsicht so unterstützt haben, dass mein Studium und diese Doktorarbeit möglich geworden sind.

Meinem Mann Tim Rathje gebührt an dieser Stelle ein besonderes Dankeschön: Er hat mich nicht nur bei der technischen Erstellung der Doktorarbeit sehr unterstützt, sondern er hat mir auch durch die Betreuung unseres Sohnes Emil viel zeitlichen Freiraum geschaffen, damit ich die Arbeit schreiben konnte. Für das Korrektur-Lesen möchte ich mich bei ihm und meiner Schwester Antonia-Madeleine Garitz bedanken.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Dominica Rathje, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Datenerhebung sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. Herbert Sayer, Frau Anja Markusch,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, im September 2010